

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Farmacología



TESIS DOCTORAL

**Acciones farmacológicas de la oxitocina sobre el conducto
deferente de rata**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Juan Vicente Beneit Montesinos

DIRECTOR:

Pedro Lorenzo Fernández

Madrid, 2015

Juan Vicente Beneit Montesinos

TP
1981
007



X-53-051303-9

ACCIONES FARMACOLOGICAS DE LA OXITOCINA SOBRE EL CONDUCTO
DEFERENTE DE RATA

Departamento de Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1980



BIBLIOTECA

© Juan Vicente Beneit Montesinos
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1980
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-17184-1980

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

FACULTAD DE MEDICINA

ACCIONES FARMACOLOGICAS DE LA OXITOCINA
SOBRE EL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA.

Autor: Juan Vicente BENEIT MONTESINOS

Director: Prof. Dr. D. Pedro LORENZO FERNANDEZ

DPTO. COORDINADO DE FARMACOLOGIA
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Dtor. PROF. P. D. GARCIA DE JALON

FACULTAD DE MEDICINA
PABELLON 3
CIUDAD UNIVERSITARIA
MADRID-3
TELEFOS. 243 78 55 - 449 34 53

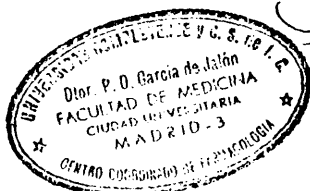
PEDRO LORENZO FERNANDEZ, PROFESOR AGREGADO NUMERARIO
DE FARMACOLOGIA, DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNI-
VERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

CERTIFICA:

Que el trabajo experimental titulado: "ACCIONES
FARMACOLOGICAS DE LA OXITOCINA SOBRE EL CONDUCTO DEFEREN-
TE DE RATA", ha sido realizada por Don. Juan Vicente Beneit
Montesinos, bajo mi dirección y tutela, reuniendo todas
las condiciones necesarias para que con él pueda aspirar
a la obtención del grado de Doctor en Medicina.

Madrid, 31 de Mayo de 1.979

EL DIRECTOR



P. Lorenzo

A mis padres.

A M^a Carmen.

Al profesor Pedro Lorenzo por el apoyo prestado en todo momento durante la realización de la presente tesis y el interés demostrado en mi formación investigadora, docente y humana. Así como por haber dirigido este trabajo.

A mi compañero Agustín Hidalgo por el entusiasmo y valiosa colaboración en el desarrollo de esta tesis.

Al profesor P.D. García de Jalón, Director del Departamento de Farmacología, por haberme brindado la oportunidad de dedicarme a la investigación farmacológica.

A todos los compañeros y miembros de este Departamento que me ofrecieron y prestaron su desinteresada colaboración. En especial: al doctor Alfonso Moreno, M^a Elena Vicente, Isabel Gómez, y Juan Manuel Lorenzo.

Al Departamento de Obstetricia y Ginecología, dirigido por el profesor José Botella, por su ayuda.

A la cátedra de Endocrinología Experimental de la Facultad de Medicina por sus enseñanzas técnicas y su colaboración en la recogida de material bibliográfico.

A M^a Luz García por brindarse a mecanografiar el texto de la presente tesis.

A la Caja de Ahorros y Monte de Piedad de Madrid por haberme concedido una Beca para la realización de esta tesis.

A M^a Carmen Saiz, por la ayuda técnica prestada. Y por último, a mis hermanos por la gran cantidad de su tiempo dedicado a este trabajo.

A todos, mi más sincero agradecimiento.

I N D I C E

INTRODUCCION

Pag.

OXITOCINA

Recuerdo histórico	1
Química	2
Localización	2
Transporte y almacenamiento	6
Liberación	7
Fibras aferentes	8
Neurotransmisiones	9
Estímulo-secreción	19
Exocitosis, endocitosis	20
Regulación de la liberación	25
Transporte y metabolismo	28
Valoración	29
Mecanismo de acción	31
Acciones sobre glándula mamaria	32
Acciones sobre miometrio	35
Acciones sobre músculo liso	38
Acciones sobre el metabolismo de los H. de C.	40
Acciones cardiovasculares	41
Otras acciones	43
Usos clínicos	45

	pag.
MELATONINA	50
CYPROTERONA	54
CONDUCTO DEFERENTE	
. Recuerdo histórico	57
. Anatomía	63
. Histología	66
. Neurotransmisión	70
JUSTIFICACION DEL TEMA	76
MATERIAL Y METODOS	78
RESULTADOS	87
DISCUSION	186
CONCLUSIONES	205
BIBLIOGRAFIA	208

INTRODUCCION

OXITOCINA

INTRODUCCION.

La oxitocina es un octapéptido de origen hipotalámico, responsable, entre otras, de las siguientes acciones: Armonizar las contracciones uterinas durante el parto, favorecer los fenómenos involutivos del puerperio, eyección de la leche desde los canales alveolares a los grandes senos intramamarios y de ser un hipotético favorecedor de la fecundación.

Si tenemos en cuenta que uno de los grandes estímulos para la investigación neuroendocrinológica lo suponen los problemas clínicos, es un poco difícil adivinar porqué numerosos endocrinólogos, anatómicos, fisiólogos.. han estudiado y estudian persistentemente los problemas relacionados con la oxitocina, hormona cuya hiper o hiposecreción tiene escasa o nula consecuencia sobre la salud humana (ROBERTS, 1977) y para la que hay que buscar su papel principal, en los mamíferos, en relación con los fenómenos de la lactancia aún cuando también es un potente estimulante de la fibra lisa uterina (TEPPERMAN, 1975)

RECUERDO HISTORICO

Hasta 1953, año en que son sintetizadas las hormonas del lóbulo posterior de la hipófisis por Du Vigneaud y col, hay una serie de hechos farmacológicos y terapéuticos dignos de reseñar. En 1894, Oliver y Schaffer describen hipertensión por extractos de la hipófisis. Howel en 1897, localiza la sustancia presora en el lóbulo posterior de la hipófisis. Magnus y Schaffer (1901) descubren la acción anti-diurética sobre el útero. Dale describe la acción de estos extractos en 1906 y Ott y Scott en 1910 lo hacen sobre glándula mamaria. Posteriormente Van den Velden y Farini (1928) tratan la diabetes insípida

con extractos de hipófisis posterior. Y en fechas posteriores son separadas la vasopresina y la oxitocina (KAMM, 1928); se aísla la oxitocina pura (LIVERMORE y DU VIGNEAUD, 1949) y son sinterizados los dos principios activos del lóbulo posterior de la hipófisis por Du Vigneaud y cols. (1953)

NATURALEZA QUIMICA

Las hormonas de la neurohipófisis son octapéptidos muy parecidos que contienen una estructura en anillo (resultado de la unión -S-S entre las dos moléculas de Cisteína en posiciones 1 y 6 para dar cistina (fig. 1 y 2), formadas por ácidos aminados y vuyas actividades difieren según qué aminoácidos ocupen las posiciones 3 y 8. En relación a esta estructura se ha visto durante los últimos años que la constitución de los principios antidiurético y oxitócico varía según las distintas especies animales. En el hombre y otros mamíferos se ha encontrado Vasopresina de Arginina (Fenilalanina en posición 3 y Arginina en 8); en cambio, la vasopresina del cerdo y del hipopótamo tienen lisina en posición 8, mientras que en aves, reptiles y anfibios se ha encontrado Arginina-Vasotocina (Isoleucina en 3 y Arginina en 8) que posee propiedades oxitócicas y vasopresoras aproximadamente iguales en mamíferos pero resultó ser mucho más activa que la ADH sobre sistemas de vertebrados distintos de los mamíferos (Vejiga y piel aislada de rana).

LOCALIZACION

La oxitocina se encuentra solamente en la neurohipófisis de los mamíferos (o en estructuras equivalentes en el caso de los vertebrados inferiores).

La neurohipófisis puede ser considerada como un reservorio de -

los principios activos que son sintetizados, de hecho, en dos núcleos hipotalámicos: el supraóptico (NSO) que contiene fundamentalmente vasopresina y el paraventricular (NPV) en el que se encuentra especialmente oxitocina.

Los péptidos activos se sintetizan en los ribosomas de las neuronas de dichos núcleos formando parte de una molécula proteica de mayor tamaño y son escindidos de la misma en los llamados "gránulos de material neurosecretor" existentes en el citoplasma, aunque también se han visto estos gránulos a lo largo del axón terminal. El "gránulo de secreción" aparece como una acumulación electrónica densa en las cisternas de Golgi. A medida que madura, se presenta como una entidad granular consistente en una membrana que rodea la acumulación electro-densa. Entre esta acumulación y la membrana se puede observar un halo claro (PICARD y STAHL, 1966). Pero el gránulo de secreción varía en su aspecto según la técnica utilizada para su estudio con el Microscopio electrónico. Así, pueden aparecer con contenido denso y halo claro (REACTIVOS), con contenido homogéneo (NO REACTIVOS), con escaso contenido o en forma de vesículas sin contenido, sin que estas variaciones estén relacionadas siempre con un estado funcional (MORRIS Y CANNATA, 1973). El tamaño de los gránulos de neurosecreción varía desde alrededor de 800 \AA hasta 3000 \AA , de acuerdo con su localización dentro del sistema (GERSCHENFELD y col, 1960) su grado de maduración, especie estudiada, etc... Los Reactivos ocupan posición más periférica que la de los No Reactivos para los que TASSO, PICARD y DREIFUSS (1970) propusieron que contenían vasopresina.

ZIMMERMAN y ROBINSON (1976) han intentado diferenciar las células productoras de oxitocina de las que segregan vasopresina. Aunque se acepta que la oxitocina se sintetiza en el núcleo paraventricular y la vasopresina en el supraóptico no hay una clara evidencia de que

esto sea estrictamente así. Tampoco existe acuerdo sobre una diferenciación histológico en el sentido de que existan células que podríamos llamar oxitocinérgicas y otras que podrían denominarse vasopresinérgicas o si las mismas células pueden sintetizar y, por tanto, acumular, gránulos neurosecretorios de ambas hormonas dentro de la misma célula. A favor de la teoría que postula que las células que contienen oxitocina y vasopresina estén mezcladas en los núcleos supraópticos y PV se encuentran SWAAB, POOL y NISVELAT (1975) quienes, basándose en técnicas de inmunofluorescencia, encuentran una disposición más anterior para las células que contienen oxitocina mientras que las que contienen vasopresina ocupan disposición más posterior dentro de los núcleos. Por otra parte, combinando medios de radioinmunoensayo y microdissección George, STAPLES y MARKS (1976) han identificado otros lugares del cerebro que contienen oxitocina. Inesperadamente, encontraron que el núcleo arcuato, núcleo hipotalámico anterior y el núcleo preóptico medial contienen cantidades detectables de oxitocina y cómo la eminencia media contenía grandes cantidades. La presencia de oxitocina en estas regiones pueden indicar que la síntesis, control de la secreción ocurren a estos niveles.

De forma paralela a la síntesis de los péptidos activos de la neurohipófisis se sintetiza una proteína de peso molecular variable según las especies (10.000-30.000) que recibe el nombre de neurofisina a la que se unen los péptidos de forma no covalente. Este complejo forma un material denso que es transportado a través del axón hasta su terminación en el seno del lóbulo posterior de la hipófisis junto a una red capilar a la cual se vierte la hormona en el momento de su secreción (SACHS y cols.)¹⁹⁶⁹ De estas neurofisinas hay al menos dos diferentes (SILVERMAN, 1976) que se encargan de la vehiculación de una u otra hormona en razón de la afinidad de cada una. También SILVERMAN

(1976) ha observado con M.E. que las neurofisininas se localizan fuera de los gránulos en la neurohipófisis pero no así en el hipotálamo.

Administrando anticuerpos antioxitocina, antivasopresina y sus respectivas neurofisininas (I y II) (DIERICKX y DE MEY, 1975; VANDESANDE y DIERICKX, 1975; DIERICKX, VANDESANDE y DE MEY, 1976) han observado que en los NSO y PV de bóvidos se sintetiza neurofisinina I y II - que las células que contenían neurofisinina I contienen exclusivamente oxitocina mientras que las que contienen neurofisinina II producen exclusivamente vasopresina. Estos mismos autores encuentran oxitocina y vasopresina en el lóbulo medio pero esta hormona se ha segregado - en fibras separadas que exhiben terminaciones características de células nerviosas, liberación que ocurre en presencia de sus neurofisininas específicas. Efectos similares se obtienen en rata. SILVERMAN - (1975) administra neurofisinina I inmunorreactiva al cobayo y observa tinción de cuerpos celulares sobre todo en los NSO y NOV, pero la tinción se extiende desde el NSO hasta la región posterior de la pituitaria y desde el NPV hasta el tercer ventrículo. Intensamente teñida se encuentra la región entre los dos núcleos (datos que parecen confirmar las observaciones de GEORGE y col. anteriormente citados). En cobaya, vaca y rata aparecen algunas fibras intensamente teñidas en la región externa de la eminencia media donde termina el plexo - portal.

Hasta ahora hemos hablado de dos tipos de gránulos de neurosecreción, Reactivos y No Reactivos y de cómo para estos últimos TASSO, PICARD y DREIFUSS (1970) propusieron que contenían vasopresina. Estos mismos autores hablan de la posibilidad de que existan tres tipos de gránulos aunque no necesariamente tres tipos de neuronas. Esta idea ha sido fomentada por el aislamiento de la neurohipófisis de buey - (WATKINS, 1975) de un péptido con comportamiento cromatográfico, com

posición de aa, reactividad química y propiedades biológicas claramente diferentes de oxitocina y vasopresina. También se han encontrado tres neurofisinas en vez de dos en el lóbulo posterior de la hipófisis de bóvidos y de cerdos. El significado de este hecho no está totalmente claro y se sugiere que el tercer tipo de neurofisina pudiera ser simplemente un precursor de la neurofisina asociada a la oxitocina.

TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO

Las neuronas de los núcleos SO y PV, que al igual que el resto de las neuronas son capaces de dar nacimiento a potenciales de acción se caracterizan, además de por su gran tamaño, por poseer pocas dendritas. Sus axones presentan características propias que facilitan su individualización. El componente característico de estos axones es el gránulo de neurosecreción que se sitúa entre o fuera de los neurotúbulos. No ha sido descrita hasta ahora ninguna estructura que pudiera concebirse como un canal de deslizamiento del gránulo. Sobre el axón neurosecretor se realizan algunos contactos sinápticos, sea en la superficie o en pequeñas indentaciones (Fig. 3). Por sus características ultraestructurales, estas aferencias son tanto de tipo colinérgico como de tipo aminérgico (TRAMEZZANI y CANNATA, 1974). Otra de las características propias de estos axones son los denominados cuerpos de HERRING (DELLMAN y RODRIGUEZ, 1970). Estos son dilataciones del axón de 2-600 u, que se presentan en todo su trayecto, especialmente en el lóbulo neural. En su interior se encuentran gran cantidad de gránulos de neurosecreción, vesículas neurosecretoras, haces de neurotúbulos y mitocondrias. El axón neurosecretor, ya en el lóbulo neural, al llegar a un capilar se dilata. En la dilatación hay gránulos de secreción, mitocondrias y "vesículas sinápticas". WALTER y col. (1976) publicaron la serie completa de aa en la neurofi--

sina II bovina, que es una proteína compuesta por 97 ácidos aminos. Se ha observado migración de gránulos en el animal viviente; su velocidad es del orden de 3 mm/día. Cuando se da un estímulo que produce liberación de ADH, disminuye notablemente el número de gránulos en el lóbulo posterior. Se secciona el tallo pituitario, más allá - del corte no se ven gránulos, sino que éstos se acumulan inmediatamente por encima de la sección, desarrollándose con el tiempo un nuevo sistema de liberación de hormonas. En la rata, cuando se inyecta Cisteína marcada con ^{35}S en el espacio subaracnoideo, los núcleos supraópticos fijan muy activamente la sustancia marcada, y al cabo de algunas horas se encuentra proteína marcada en el lóbulo posterior. La misma observación refieren PICKERING y JONES para la administración intracisternal de tirosina marcada. No hay incorporación cuando se administra metionina marcada (no hay metionina en los péptidos).

LIBERACION

La liberación de neuropéptidos supone la separación de su proteína transportadora y el paso a la circulación capilar.

Las microfotografías electrónicas han mostrado en los terminales nerviosos vesículas muy pequeñas parecidas a las de Ach; es posible que contengan un mediador de liberación, probablemente distinto de la Ach, pues no hay colinoacetilasa en el lóbulo posterior y resultaría difícil explicarse una síntesis rápida de Ach (TEPPERMAN, 1975). En este caso, el problema se parece mucho al que plantea el tiroides, - donde una substancia de pequeño peso molecular se separa de una proteína de almacenamiento y es secretada a la sangre.

Consideramos interesante estudiar varios aspectos relacionados con la liberación de neurohormonas. A saber:

- Origen y naturaleza de las fibras aferentes

- . Axón terminal y neurotransmisores
- . Estímulos liberadores de oxitocina
- . Código neural para la liberación de oxitocina
- . Acoplamiento estímulo-secreción
- . Endocitosis y exocitosis
- . Control hormonal de la secreción de oxitocina

a) ORIGEN Y NATURALEZA DE LAS FIBRAS AFERENTES

Al no existir regulación de la liberación de oxitocina por Releasing Factors, el estímulo es neurogénico, bien en las células hipotalámicas o en la "pars neuralis" de la hipófisis.

CROSS (1974) llamó la atención sobre la escasa información existente en torno a la localización e identificación de las sinapsis neurosecretorias. Parte del problema deriva de la dificultad de identificar los axones de las células neurosecretoras y diferenciarlos de los axones de las dendritas. Se ha podido observar que un pequeño número de sinapsis están finamente distribuidas en el cuerpo celular y a lo largo del axón de neuronas que terminan fuera del hipotálamo (DYER, DYBALL y MORRIS, 1973) pero otras probablemente son colaterales y la inmensa mayoría son sinápsis de interneuronas de la misma o diferente naturaleza. En ambos extremos de la vía neurosecretora existe una profusa inervación Noradrenérgica, así como terminales colinérgicos que se distribuyen sobre los núcleos hipotalámicos. No hay terminales serotoninérgicos o dopaminérgicos en esta zona (FUXE y HOKFLET, 1967), pero sí en la neurohipófisis. Es la pars neuralis, de la hipófisis de rata se han identificado fibras monoaminérgicas (UGRYUMOV y BELENKY, 1975); algunas de ellas terminan en capilares pero la mayor parte están íntimamente unidas a fibras neurotransmisoras y pituicitos aunque no pueden identificarse anatómicamente formando -

parte de sinapsis (BAUMGARTEN y col, 1972). Existen también fibras de origen periférico que rodean a los vasos del lóbulo neural. Sería muy útil conocer la distribución y la frecuencia relativa de sinapsis excitadoras o inhibitoras. Pero por desgracia se desconocen gran parte de los factores de este area.

b) AXON TERMINAL Y NEUROTRANSMISORES

Aunque el botón terminal de las células oxitocinérgicas se encuentran en la hipófisis anterior, hay evidencia de la existencia de oxitocina en la región externa de la eminencia media (VANDESANDE y col, 1975; DRIERICK y col, 1976). En el núcleo arcuato, hipotalámico anterior y en el núcleo preóptico medio (GEORGE y col, 1976) ha sido posible ver algunos axones alcanzando estas areas. Pero la observación de estas raíces no permite aclarar la cuestión del papel de la oxitocina en estas regiones del cerebro. SCHNEIDER (1965) basado en estudios microscópicos ha sugerido que la oxitocina es liberada de algunas regiones fuera de la neurohipófisis de vaca durante la lactación, observación que implica a los axones oxitocinérgicos en la secreción de oxitocina en respuesta a los estímulos de lactación distribuidos de forma no arbitraria, concepto digno de confirmarse.

Se da por sentado que las células oxitocinérgicas liberan oxitocina, pero quedan algunas cuestiones por resolver hay evidencia de que existen células neurosecretoras fuera de las ramas colaterales recurrentes y que parecen tener un papel neurotransmisor, pero ¿modularán la liberación de oxitocina? ¿liberarán oxitocina? Parece improbable que su papel neurotransmisor recaiga sobre la oxitocina (LINCOLN, - 1974). Por otra parte, parece ser que existe una liberación refleja de eyección de leche en la rata. Pero hay pocas investigaciones electrofisiológicas de este problema y parece evidente que no hay una in

fluencia por feed back colaterales (WAKERLEY y DEVENSON, 1975).

Hay interesantes estudios farmacológicos acerca de la naturaleza de las sinapsis y neurotransmisores que intervienen en la liberación de oxitocina.

BARCAGLIONI, DONOSO Y RODRIGUEZ (1975) han determinado Noradrenalina, dopamina y serotonina en hipotálamo y algunos métodos histoquímicos han puesto de manifiesto actividad acetilcolinesterasa (SCHUTE y LEWIS, 1966).

PICFORD y WATT (1959) obtienen una franca eliminación de leche en gatas y perras mediante inyección de Ach. La administración de un anticolinérgico o su implantación en el núcleo paraventricular bloquea la respuesta oxitócica a la succión en la rata (OBA y col, 1971a). Este hecho se correlaciona con las modificaciones en la actividad de la acetil-colinesterasa en el hipotálamo, verificadas durante la lactancia (OBA y col, 1971b). MOSS y col (1972) (cita bibl. en CLARKE) analizan las respuestas de neuronas del núcleo PV a los neurotransmisores administrados por microelectrodoforesis (las neuronas específicas se identificaron previamente por estimulación antidrómica de la neurohipófisis). La Ach, como se preveía, se comporta como excitadora de la actividad eléctrica espontánea en la mayor parte de las células. En cambio, la NA, la inhibe. Los efectos de la Ach son inhibidos por atropina solamente en algunas neuronas, mientras que en otras debe emplearse un compuesto antinicotínico para bloquear, lo que señalaría la presencia de dos diferentes receptores, uno muscarínico y otro nicotínico en las neuronas Ach-sensibles del núcleo paraventricular. En concordancia con estos resultados, CROSS (1974) sugiere - que la Ach es un importante neurotransmisor excitador de las células productoras de oxitocina y vasopresina mientras que la NA sería un neurotransmisor inhibidor. Dopamina y 5-HT, si bien no son activos a

nivel hipotalámico, podrían eventualmente participar a nivel neurohipofisario aunque se ha observado que la dopamina administrada en los ventrículos laterales regula el flujo de oxitocina y vasopresina y sus antagonistas específicos (haloperidol) impedían que se produjera (BRIDGES y col. 1975). La administración intravenosa de antagonistas de la dopamina con propiedades antieméticas (haloperidol y metoclopramida) retrasan la eyección de leche en ratas que amamantaban a sus crías; mientras que la estimulación en la neurohipófisis o la inyección de oxitocina normalizaban dicha eyección.

MOSS y RICHARD (1975a) observan cómo distintos fármacos modifican la secreción de oxitocina en la rata inducida por distensión vaginal, estimulación vagal y succión del pezón. La inyección intraventricular de fentolamina (40 ugr, o Tolazolín, 100 ugr.) interfieren con el estímulo vagal y distensión vaginal reduciendo la respuesta en el plazo de cinco minutos. Las respuestas volvían a la normalidad en el plazo de 1 hora. Con beta-bloqueantes (propranolol y oxprenolol) se obtuvieron los mismos resultados. Curiosamente, la reserpina (a altas dosis, vía subcutánea) no modificaba la respuesta. Atropina y antimuscarínicos inhibían la respuesta vagal pero no la inducida por distensión vaginal. Hexametonio, gallamina y agentes nicotínicos no inhibían ninguno de los reflejos. CLARKE y col. (1978) siguen estudiando el papel del sistema colinérgico en la liberación de oxitocina inducida mediante succión mamaria y registrada midiendo la presión intramamaria. El reflejo de eyección se bloquea con antagonistas de receptores nicotínicos (mecamilamina y hexametonio) y la inhibición es dosidependiente. A pesar de usar grandes dosis de bloqueantes muscarínicos (atropina, hioscina y benzhexol) no desaparece el reflejo de liberación de oxitocina. Ach, carbachol y betanecol administrados intraventricularmente estimulan la liberación de oxitocina, efecto -

bloqueado por atropina pero no por mecamilamina ni por hexametonio. Por su parte, la nicotina administrada por vía intraventricularmente es relativamente ineficaz.

A la vista de los resultados, podemos decir que en la liberación de oxitocina hay un claro control adrenérgico (alfa y beta) y una doble participación del sistema colinérgico mediada por receptores nicotínicos y muscarínicos.

CLARKE y col. (1978) suponen que el estímulo de succión es mediado vía cortex cerebral, y es significativo que los mecanismos colinérgicos en el cortex cerebral sean exclusivamente muscarínicos - (KRNJERIC y PHILLIS, 1963).

Esta inferencia farmacológica tiene una concordante respuesta electrofisiológica. De esta forma, mediante el estudio de la descarga unitaria inducida en las neuronas por la aplicación local de sustancias mediante iontoforesis permite estudiar la naturaleza de los procesos sinápticos involucrados en la actividad de las neuronas de los NSO y NPV. La administración de NE o Ach por iontoforesis estimula una gran proporción de células del NPV (VLOOM y col., 1963), - dato que confirma la presencia de terminales sinápticos de tipo colinérgico (SHUTE y LEWIS, 1966) y Noradrenérgica (FUXE y HOKFELT, 1967) en las áreas magnocelulares del hipotálamo anterior, respuestas que son diferentes a las observadas en las neuronas no secretoras de estos núcleos. CROSS y col. (1971) y MOSS y col. (1972b) encontraron que el 81 % de 225 células neurosecretoras estudiadas fueron activadas por Ach, mientras que la NA produjo un efecto inhibitorio en el 83 % de ellas. Por el contrario, en las células no secretoras, la Ach produjo inhibiciones en el 76 %, mientras que la NA activó el 81 %.

La administración de dopamina y serotonina induce efectos va--

riables tanto en las células secretoras como en las no secretoras. Por otra parte, el glutamato induce consistentemente la activación y el GABA la inhibición de las descargas de los dos tipos de células del NPV. (MOSS y col. 1971a).

Parece, pues, sumamente probable que las conexiones de tipo - colinérgico son las principales responsables de excitar las células de los núcleos SO y PV y que las aferentes NA las inhiben.

ESTIMULOS PARA LA LIBERACION DE OXITOCINA

Aun cuando electrofisiológicamente y farmacológicamente parece posible establecer distinción entre las células encargadas de la producción de oxitocina y vasopresina existe la evidencia experimental de que los estímulos asociados convenientemente a la liberación de vasopresina pueden, también, aumentar la liberación de oxitocina. Así GEORGE (1976) observa un aumento de la liberación de oxitocina en ratas que beben agua hipertónica salina. Por otra parte, la deshidratación produce vaciamiento de los depósitos de oxitocina y vasopresina en el núcleo SO y PV, arcuato y area retroquiasmática, pero no en el núcleo supraquiasmático ni en la eminencia media. BRIMBLE y DYBALL - (1977) y BRIMBLE y col. (1978) encuentran liberación de oxitocina al administrar soluciones hipertónicas de ClNa, ClLi y manitol. Y en la diabetes insípida, en la que, teóricamente solo hay afectación de la secreción de vasopresina, se ha encontrado (SENDE y col., 1976) oxitocina en el plasma de estos enfermos.

Estudios realizados en el gato y el perro (KOIZUMI y YAMASHITA 1972) revelaron que la inyección intracarotídea de soluciones hipertónicas, predominantemente aumentan la frecuencia de descarga de neuronas SO y PV tanto en las estimuladas antidrómicamente como en las que no responden a la estimulación del lóbulo neural. Más reciente-

mente, HAYWARD y JENNINGS (1973) han analizado las características de descarga de neuronas magnocelulares, así como su respuesta a soluciones hipertónicas de cloruro sódico y de D-glucosa en el mono - despierto. Estos autores describen tres patrones de descargas espontáneas en estas células: a) neuronas silenciosas, que solo responden a estimulación antidrómica del lóbulo neural; b) neuronas continuamente activas y c) neuronas con descarga de tipo intermitente, con - períodos alternados de silencio y descarga. La estimulación osmótica provocó un incremento inicial en la descarga neural de estos tres tipos de neuronas, seguida, generalmente, por un período inhibitorio. En conjunto, los resultados obtenidos por registro unitario de neuronas magnocelulares sugiere que la aplicación de estímulo osmótico suficiente para producir liberación de ADH y oxitocina induce en estas neuronas un incremento en su frecuencia de descargas, que puede ser seguido por un período de inhibición. Esta inhibición secundaria pudiera ser debida a la existencia, dentro del propio sistema magnoce-lular, de neuronas intercalares de tipo inhibitorio, que serían activadas por colaterales de los axones de neuronas secretoras, como ha sido sugerido por KANDEL (1964) y por KOIZUMI y YASMASHITA (1972). Este sistema colateral recurrente tendría la función de prevenir la sobreestimulación de las células neurosecretoras. En base, pues, de estos resultados, es probable que el paso de material neurosecretor contenido en los axones hacia los capilares del lóbulo neural depende de un mecanismo relativamente simple, que usaría fundamentalmente la frecuencia de descarga (potencial de acción/seg.) como código de información. A veces, se encuentran altos niveles de oxitocina y ADH en la pituitaria debido, probablemente, a que las tasas normales de ADH puedan distorsionar el metabolismo del agua y alterar los estímulos secretores. Pero no se tiene una evidencia absoluta de que la ADH pueda inhibir la secreción de oxitocina o facilitar la síntesis.

Presumiblemente, y dada la disposición entremezclada de neuronas vasopresinérgicas y oxitocinérgicas en el hipotálamo, un estímulo pueda afectar preferentemente a las neuronas vasopresinérgicas (deshidratación) y otros a las neuronas oxitocinérgicas (lactación).

Es bien conocido que el estímulo de succión induce, con una latencia breve, la liberación de oxitocina que, actuando sobre el miopitéllico mamario, produce la eyección lactea. Por otra parte, existe la evidencia de que las neuronas del NPV son las responsables de la síntesis de esta hormona (NIBBELINK, 1961). Por consiguiente, se han realizado varios estudios conducentes a intentar registrar la actividad eléctrica de neuronas paraventriculares durante situaciones conducentes a la liberación de oxitocina (succión por la camada, estimulación mecánica del pezón). Un problema fundamental es que la administración de anestésicos frecuentemente inhibe el reflejo de evacuación láctea. Sin embargo, BROOKS y col. (1966b) observaron que la estimulación del pezón en gatas lactantes bajo anestesia ligera de cloralosa inducía un incremento en la descarga de neuronas presumiblemente localizadas en el NPV, por lo que este fenómeno se asoció a un aumento de la presión intramamaria sugestivo de liberación de oxitocina. En una preparación similar, ISHIKAWA y col. (1966a y b) observaron activación de la descarga de axones en el tracto hipotálamo-hipofisario por la aplicación de succión en el pezón. En fecha más reciente, este tipo de resultados ha sido confirmado en neuronas identificadas como del NPV por estimulación antidrómica. Así, WAKERLEY y LINCOLN (1971), observaron en ratas lactantes anestesiadas con barbitúricos que la mayor parte de las neuronas incrementaba su frecuencia de descarga durante la succión de la camada. Esta descarga activa solo dura unos segundos y fue seguida por una depresión clara. La correlación entre la frecuencia de descarga de neuronas paraventriculares y la liberación de oxitocina

queda confirmada por DYBALL y DYER (1971) quienes observan en ratas con islotes diencefálicos una proporción muy elevada de neuronas PV silenciosas asociado todo ello a niveles prácticamente no detectables de oxitocina plasmática. En un trabajo más reciente WAKERLEY y LINCOLN (1975 a y b) han observado que aunque la succión de la cría tiende a producir estimulación continua en la madre, los disparos de actividad eléctrica se producen solamente durante 1-4 segundos cada 4-8 minutos. El aumento de la presión intramamaria, índice de la liberación de oxitocina, ocurre 12-18 segundos después del episodio de aceleración de la actividad eléctrica (80 spikes -- por segundo). Contraria a la observación del estímulo adecuado que supone el comportamiento en la mamada intermitente del cachorro es la observación de que la frecuencia de "spikes" y el aumento de la liberación de oxitocina es directamente proporcional al número de cachorros mamando, de tal modo que con menos de seis cachorros mamando no hay respuesta. Es importante observar la intensidad del estímulo u el aumento de la liberación de oxitocina durante el episodio de activación lo que sugiere la posibilidad de que cada neurona oxitocinérgica descargue una sola vez en el hipotálamo. En la rata, la frecuencia de spikes y la duración de los disparos de activación son directamente proporcionales. Sin embargo, no existe relación entre la duración de la activación y el número de cachorros o su comportamiento mamar.

Diferentes conclusiones pueden aplicarse a las células neurotransmisoras generalmente estimuladas. El acúmulo de respuestas en la fase de estimulación continua da lugar a pensar que alguna suerte de mecanismo debe haber operado. Por otra parte, se ha visto que la cantidad de hormona secretada no depende del número de nervios neurosecretores estimulados durante el episodio de actividad. Finalmente, se ha visto que el estímulo periférico aumenta la excitabili

dad de las células neurosecretoras en la madre. Instados por estos datos, DREIFUSS y col. (1976) han investigado la respuesta de las neuronas secretoras del núcleo 50 de rata que están siendo lactadas a la distensión vaginal. Los resultados obtenidos con la distensión vaginal son inferiores a los obtenidos con succión mamaria, y calculan que solo el 40 % de células neurosecretoras responden a la distensión vaginal.

De los trabajos de LINCOLN y WAKERLEY se desprende que la presión mamaria aumenta en proporción a la intensidad de la respuesta eléctrica de las células por distensión vaginal. Además, la respuesta eléctrica varía en relación directa a la intensidad del estímulo (presión del balón en la vagina). En conclusión, parece ser que la liberación de oxitocina en respuesta a estímulos como la succión es el resultado del aumento en la frecuencia de descarga de las neuronas secretoras que producen esta hormona. En contraste con el estímulo de succión, el estímulo de distensión vaginal no es, evidentemente, la "puerta de entrada para respuestas celulares constantemente estimuladas inmediatamente después de la distensión vaginal".

Se ha sugerido que la oxitocina liberada por las neuronas del NPV podría, a su vez, modular la actividad eléctrica y la consiguiente secreción de éstas. En relación con este fenómeno, las respuestas neuronales a la aplicación iontoforética de hormonas hipofisarias - constituye una evidencia importante de la existencia de mecanismos de retroalimentación de tipo positivo corto, reguladores de la actividad secretoria hipofisaria. De esta manera, se ha obtenido evidencia sólida acerca de la existencia de un mecanismo de retroalimentación de tipo corto, que opera a nivel de los NPV para regular la secreción de oxitocina, que había sido postulado en años anteriores - (KAWAKAMI y SIATO, 1967, 1969). En efecto, la inyección iontoforéti

ca de oxitocina induce un efecto excitador de las células secretorias PV de la rata y el conejo pero no ocurre en las neuronas no secretoras o en unidades talámicas y corticales (MOSS y col, 1972a) como tampoco en las del núcleo SO (MOSS y col, 1972a). Se sabe, además, que la inyección intravenosa de oxitocina no va seguida de modificaciones de la descarga neural del NPV (CROSS y DYER, 1969; DYBALL y DYER, 1971) por lo que la evidencia de la actividad producida por oxitocina administrada iontoforéticamente en la célula que la sintetiza indica que, en la secreción de oxitocina existen mecanismos locales de autorregulación, que son poco afectados por los niveles circulantes de la hormona.

ACOPLAMIENTO ESTIMULO-SECRECION

Las investigaciones sobre el mecanismo de despolarización de las membranas que rigen la liberación de neurofisinas, oxitocina y vasopresina de los terminales de las células neurosecretoras en el lóbulo posterior de la hipófisis, han enfocado ostensiblemente el papel del calcio en el mecanismo de acoplamiento puesto que es imposible la liberación en ausencia de iones calcio. Las hipótesis usuales de despolarización sugieren que cualquier aumento del flujo de calcio hacia el interior a la liberación del calcio desde sus sitios de unión intracelular incrementa el calcio libre intracelular que - de algún modo causa liberación de hormonas desde sus lugares de almacenamiento.

ROBINSON, RUSSEL y THORN (1976) han realizado estudios en este sentido usando ionóforos de calcio, agentes que facilitan el transporte de calcio a través de las membranas biológicas. Y aunque no miden liberación de oxitocina, sus observaciones sobre la liberación de vasopresina y neurofisinas inducidas por ionóforo probablemente puedan aplicarse a oxitocina. Pusieron de manifiesto que el ionóforo A 23187 no tiene nada que ver con la inducción de la liberación de vasopresina y el X 537A induce la secreción mediante mecanismos que probablemente no tienen nada que ver con la facilitación del transporte de calcio a través de la membrana por lo que recomiendan precaución al interpretar la acción de los ionóforos. Por otra parte, (DYBAL (1975) remite la cuestión a qué efectos de los anestésicos - puede haber en el acoplamiento estímulo-secreción en la neurohipófisis. La cuestión viene suscitada por el estímulo de la secreción de vasopresina "In vivo" por el uretano, mientras que no ocurre para el tribronoetanol, aún cuando se sospecha que estos mismos anestésicos actúan sobre idénticas células neurosecretoras. DYBALL usa -

56 mM de potasio para inducir liberación de oxitocina de la hipófisis posterior "In vitro" en presencia de varios anestésicos. De este modo, la estimulación con 56 mM de ClK en presencia de tribromoetanol (0,5 mM/l) no ocurre una mayor acumulación de oxitocina que cuando la estimulación se hace en presencia de Manitol (25 mM/L). Sin embargo, estimulando en presencia de 25 mM de uretano resulta una mayor acumulación, y en presencia de Pentobarbitona sódica (0.4 mM/l) la significación es menor. Es interesante que el uretano potencia significativamente el Uptake de calcio ⁴⁵ dentro de la glándula aislada y que la barbitona lo inhiba, sugiriendo los diferentes efectos de estos agentes en la liberación de la hormona in vivo un índice reflejo de las divergentes influencias en el acoplamiento estímulo-secreción.

EXOCITOSIS Y ENDOCITOSIS

El estímulo es recibido para la liberación de oxitocina en el NPV es transmitido por el axón neurosecretor hasta el axón terminal en la neurohipófisis.

Los investigadores han dedicado esfuerzos para aclarar cómo se produce la liberación de péptidos del axón terminal. Dentro de los terminales, cualquiera hormona es acumulada en asociación con su neurofisiología dentro de la membrana limitante de los gránulos neurosecretorios. Aunque ciertos estímulos (succión del pezón, distensión vaginal) producen la liberación al torrente circulatorio, no se ha descrito aún ningún arco reflejo (VOLOSCHIN y TRAMEZZAMI, 1973). Se han postulado varias hipótesis para explicar la liberación de hormonas desde el gránulo neurosecretor al torrente sanguíneo (LEDERIS, 1971). Una posibilidad es que el estímulo produzca un aumento de la permeabilidad de la membrana del gránulo neurosecretor y que el contenido

de éste salga en forma de dispersión molecular, que atravesaría - los diferentes compartimentos (citoplasma de la terminación nerviosa, membrana de la terminal, espacio pericapilar...) hasta llegar al torrente sanguíneo. Quedarían dentro del axón las vesículas vacías. Otra teoría postula que los gránulos neurosecretorios, al recibir el estímulo, se fragmentan. También se ha postulado que la - descarga hormonal se produce a partir de un pool extragranular de hormona y que los gránulos neurosecretorios actúan como renovadores o reserva del pool disponible de hormona.

Debido a que las llamadas "vesículas sinápticas" aumentan en los casos de descarga hormonal, se postuló que su relación con esta descarga hormonal venía dada por la posibilidad de que contuvieran en - su interior algún transmisor químico (tipo acetilcolina), el cual, facilitaría la liberación de la hormona del gránulo hasta el espacio extracelular. Generalmente se acepta que la membrana de los gránulos se une con la membrana plasmática y descarga el contenido de gránulos. Existe, no obstante, discordia sobre cómo es recuperada - del plasmolema la membrana fusionada. El concepto original de exocitosis incluye el postulado de que las células de membrana sufren micropinocitosis activa sobre el retorno del material de membrana hacia el citoplasma en forma de microvesículas. Sin embargo, aunque - se han observado numerosas microvesículas en las terminaciones nerviosas neurosecretoras, recientes evidencias indican que éstas no - representan el restablecimiento de membranas de los gránulos neurosecretorios empleados.

SWAM y PICKERING (1974) han estudiado el destino de ambos contenidos y las membranas envolventes de los gránulos neurosecretorios marcándolos con S^{35} -cisteína y H^3 -colina, respectivamente. Después de estudiar la distribución de abundantes componentes subcelulares -

marcados del lóbulo neural de rata, ambos en función del tiempo - después de inyectar el precursor marcado y de la función de la liberación de hormona estimulada por deshidratación. Aislaron y analizaron fracciones citoplasmáticas, mitocondriales, microsomal (vesículas pequeñas) y fracción granular neurosecretora. La centrifugación diferencial de los gránulos aislados produce una fracción de membrana granular separada del contenido de los gránulos.

El marcaje de gránulos neurosecretores se completa después de 18 horas; el tritio se asocia con las fracciones de membranas y el S^{35} con el contenido de gránulos. La deshidratación del animal elimina S^{35} del lóbulo neural pero reduce escasamente el H^3 , indicativo de que las células neurosecretoras retienen las membranas de los gránulos secretores mientras que eliminan su contenido. Significativamente, el H^3 ha sido retenido en la fracción granular no ha emigrado en las vesículas pequeñas de la fracción microsomal. Los autores discuten la posibilidad de que los gránulos descarguen su contenido intracelularmente puesto que las hormonas abandonan la célula por difusión, postulado no sustentado por hechos. Evidentemente, el gránulo libera su contenido por exocitosis y la membrana retorna más o menos intacta al citoplasma.

Con ayuda del microscopio electrónico, NORDMAN y MORRIS (1976) han podido observar recapturación de membranas granulares e incorporación al interior de la célula en forma de vacuolas de tamaño aproximado al de los gránulos neurosecretores pero translúcidos en lugar de poseer densidad electrónica. Después de la estimulación del lóbulo neural "in vitro" con 56 mM de CLK, la proporción del volumen total ocupado de la terminación nerviosa por gránulos neurosecretores significativamente mientras que el ocupado por vacuolas aumenta significativamente. No el tamaño ni el número de microvesículas cambia.

El número de vacuolas que aparece, sugiere que el estímulo permite vaciar 1.7×10^9 gránulos. La cantidad de oxitocina bioensayable liberada fue de 128 mU, lo que significa que 2.1×10^9 gránulos han debido ser descargados en su contenido (6×10^{-8} mU de oxitocina). La consecuencia de estos dos acuerdos obtenidos independientemente son bastante aproximadas.

Más evidencia de la recaptación de membranas celulares de los gránulos proceden de THEODORIS, DREIFUS, HARRIS y ORCILL (1976) quienes observaron que los axones neurohipofisarios absorben la peroxidasa administrada intravenoso. Después de un tiempo, la actividad peroxidasa aparece dentro de las vacuolas y los compuestos carbonados formados son del mismo tamaño que los gránulos. Las microvesículas contienen poco o nada de peroxidasa. La estimulación (hemorragia, estimulación eléctrica de las células pituitarias del tallo) agudiza el aumento del pool de vacuolas que fijan peroxidasa en tiempo tan escaso como un minuto. Esta observación no implica que se lleve a cabo una micropinocitosis seguida de una conversión microcelular de grandes vacuolas pero esto requiere que un proceso determinado ocurra rápidamente.

El papel fisiológico de la neurofisina tanto dentro de la célula secretora como en el mecanismo de liberación así como en el plasma no se comprende. SILVERMAN (1976) ha sugerido que la hormona libre dentro de la célula puede ser desfavorable a la hormona o a la célula. La neurofisina puede prevenir el daño guardando la hormona fuera de solución. La concentración sustancial de neurofisina extraglandular revelada por SILVERMAN mediante un método citoquímico podría adquirir un papel de guardián en el citoplasma.

Debido a que la clave del significado fisiológico de la neurofisina se piensa que es su habilidad para ligar oxitocina (y vasopre-

sina), las propiedades físicas de la interacción ha interesado a los endocrinólogos. Se han usado gran cantidad de métodos físicos en el estudio de esta interacción incluyendo la resonancia nuclear magnética (BLUMENSTEIN y HRUBRY, 1976), el equilibrio de la diálisis y técnicas de sedimentación (GLASEL y col, 1976; NICOLSY y col. 1976; HOPE y col, 1975). La literatura más reciente está de acuerdo con que la afinidad de ligamiento de neurofisisina por oxitocina es un poco baja. A 37°C y $\text{pH} = 7.4$ casi nada de hormona se liga a neurofisisina. Incluso en gránulos neurosecretorios donde el pH puede ser cercano al óptimo para la unión, la afinidad constante es solamente 10^{-4} o 10^{-5} M, el valor preciso es dependiente de la cantidad en que la neurofisisina exista en dímeros o oligómeros y ello mismo en función de la concentración de hormona y proteína. El objetivo central de estas investigaciones físicas es comprender la física de la unión usando neurofisisina y oxitocina como sistema modelo. El mensaje para los endocrinólogos parece ser que si bien las propiedades de la neurofisisina son la clave de su significado fisiológico, la especificidad y capacidad son probablemente más importantes que la afinidad.

CONTROL REGULACION DE LA LIBERACION DE OXITOCINA

Recientemente se ha conocido un agente no farmacológico estimulante de la secreción de oxitocina. También, han aparecido sugerencias en cuanto a que aparece elevación de hormonas tiroideas en la rata con la secreción de oxitocina. En los últimos años se han separado en plasma humano dos fracciones de neurofisisina que corresponde a las entidades encontradas en el núcleo magnocelular de las neuronas secretoras del hipotálamo y en la hipófisis posterior. Los estrógenos son estimulantes de la secreción y se sospecha una asociación con oxitocina. El estímulo de nicotina se sospecha asociado a vasopresina. ROBINSON y col. (1976) han examinado cuidadosamente este estímulo en monos Rhesus. El mono normal y el castrado responden a 330 ugr. de benzoato de estradiol, inyectado i. m.m con aumento de la concentración circulante del llamado Neurofisisina Estimulada por Estrógeno (ESN) que comienza a las 10 horas de la administración y se mantiene hasta las 96 horas. La Neurofisisina Estimulada por Nicotina (NSN) también aumenta pero no hasta pasadas las 22 horas de la administración. En respuesta a Nicotina (400 ugr, i.v.) o hemorragia (60-100 ml), la ESN no se altera mientras que la NSN aumenta. Durante el ciclo menstrual, ESN aumenta en paralelo con el ascendente incremento de estrógenos. Este hallazgo reproduce, cualitativamente, las observaciones hechas previamente en humanos (ROBINSON, 1975).

Como se ha observado que el aumento de ESN en la circulación implica liberación de oxitocina, los estrógenos pueden considerarse un evidente estímulo para la liberación de oxitocina hasta el punto de que el aumento de ESN es un indicador de la liberación de oxitocina encontrada durante la lactación; y la lactación es el mejor estímulo neurogénico para la liberación de oxitocina, y probablemente el más específico, encaminado a aumentar significativamente las neu-

rofisinas inmunorreactivas en la sangre de la mujer lactante (LEGROS y col. 1975).

Los hechos precedentes prestan base a la sospecha de que estrógenos y progesterona modulan la mediación neurogénica de la secreción de oxitocina. Y aunque la evidencia es farmacológica, dosis moderadas de esteroides se muestran activas en este tipo de experimentación. Por consiguiente, es verosímil que el ovario normal segregue abundante estrógeno y progesterona para influir la secreción de oxitocina. En suposición de ROBERTS (1975), la abundante distribución del aumento de oxitocina segregada en respuesta al estímulo de distensión vaginal varía con el ciclo de estrógenos en la cabra en relación con el aumento y disminución de progesterona endógena. En general, la progesterona suprime el reflejo de distensión vaginal y los estrógenos lo potencian. Los estrógenos, también, pueden causar directamente mayor o menor liberación de oxitocina, pero la evidencia de esto, previamente mencionada, está basada en el hallazgo de que los estrógenos tienden a aumentar los niveles en la circulación de neurofisi-na aunque sea liberada con oxitocina desde la neurohipófisis.

Las acciones moduladoras de los esteróides ocurren probablemente en el hipotálamo pero esta evidencia parece ahora consistente con la posibilidad de que los estrógenos produzcan ellos mismos aumento de la liberación de neurofisinas. PEDROZA (1975) y NAGLE, CARDINALE y ROSNER (1975) han estudiado el acúmulo de estradiol tritiado en la neurohipófisis. Han estudiado también el estímulo con estradiol (0.3 ugr.) para la incorporación de H^3 -leucina dentro de proteínas neurohipofisarias de ratas ovariectomizadas en periodos de 24 horas. Como el Uptake de H^3 -estradiol y de neurofisinas tienen un ritmo diurno probablemente significa que la duración de la estimulación estrogénica para la incorporación de leucina tiene también variaciones

diarias.

Se ha visto que las prostaglandinas modulan la secreción de oxitocina pero toda la evidencia de este hecho es farmacológica y dificulta su interpretación. PRILUSKY y DEIS (1976) han establecido que 20-40 ugr. de prostaglandinas F_2a inyectadas i.pert. inhiben la eyección de leche en ratas lactadas durante 4 h. Contrastados con - controles adecuados, los resultados fuerzan a los autores a concluir que PGF_2a inhiben la secreción de oxitocina inducida por la succión. SINGH y KATZARSKI (1975), por otro lado, concluyen que 10 ugr. de - PGF_2a i.v. en ratas no gestantes pueden producir liberación de oxitocina de la neurohipófisis. Se ha visto también que la PGE_2 se com porta como estimulando de la liberación de oxitocina. (GILLESPIE y col. 1972) y que el etanol inhibe (CHRISTOPHERY y col. 1977). Es importante recalcar que las PG aparecen en la periferia pero no alcanzan el cerebro porque el pulmón metaboliza las PG con una eficacia fundamental. Si las prostaglandinas endógenas influyen en la secreción de oxitocina podrían producirlo en cerebro o en pituitaria posterior.

TRANSPORTE Y METABOLISMO

Una vez liberadas a la circulación las hormonas de la neurohipófisis se unen, probablemente, a proteínas plasmáticas (globulinas) en proporción variable según las especies.

El tiempo de duración de la oxitocina en el plasma es de solo algunos minutos, pero si se excluyen de la circulación el hígado, - los riñones, su vida media aumenta considerablemente. Está plenamente demostrado que la oxitocina es inactivada por homogeneizado de - hígado o riñón "in vitro", y que esta destrucción es de naturaleza enzimática. WALTER (1976) ha postulado la existencia de dos tipos diferentes de metabolismo en riñón. Un primer tipo, que ocurre en todas las especies animales y, preferentemente en la rata, libera GLICINAMIDA del C-terminal, y un segundo tipo limitado solamente a algunas especies, en el que se libera el dipéptido LEU-GLY-NH₂ por ruptura enzimática después de la prolina. También hay oxitocinas en otros tejidos: tejido mamario, músculo estriado, corazón, hipotálamo y glándula hipofisaria, aunque se tiene la impresión de que estas oxitocinas no son específicas. WOJCIK y BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA - (1978) han visto que también la degradación se realiza en el testículo, un 30 % por reducción de los puentes disulfurosos y un 70 % por ruptura del enlace CYS-TIR por acción simultánea de peptidosos no específicos. Y aunque no específicos, la presencia de enzima en el testículo debe tener un papel fisiológico. En un intento de demostrar la penetración de oxitocina en el tejido testicular WOJCIK y PIETRAS (1975) miden la actividad oxiótica en sangre y en homoge- neizado de testículo de conejo en intervalos de tiempo variable des- pués de la inyección de oxitocina sintética en el testículo (I.n). Los datos demostraron actividad oxiótica en el testículo, pero des- graciadamente los datos son muy variables para esperar una completa

evidencia en la realidad del fenómeno.

En la mujer embarazada (pero no en el hombre ni en la que no lo está), hay grandes cantidades de oxitocinasa circulantes. Por esto se les ha dicho responsables de la protección del útero pre--vídico contra la estimulación por la oxitocina, permitiendo que el embarazo llegue a término.

Algunos metabolistas de la oxitocina presentan actividad biológica. WALTER (1974) ha estudiado el proceso en detalle, fijando su atención en el metabolito H-PRO-LEU-GLY-NH₂, al que se supone un factor inhibidor de la secreción de hormona estimulante de los melanocitos. También se ha visto que es responsable de mejorar los síntomas del parkinson y ha demostrado actividad en la depresión. El sistema enzimático degradador que libera H-PRO-LEU-GLY-NH₂ de la oxitocina está asociado a fracciones de membrana del tejido hipotálamico, degrada la porción del anillo de la oxitocina residuo a residuo hasta las uniones de péptidos pero deja las uniones PRO-LEU-GLY-NH₂ intactas.

ADMINISTRACION

Administrada por vía oral, la oxitocina es ineficaz porque se destruye por acción de la quimotripsina. En cambio es eficaz administrada por vía i.m, endovenosa, sublingual e incluso, si bien es muy incómodo, por vía transmesal mediante el empleo de sprais.

VALORACION

Para valorar extractos que contienen oxitocina puede utilizarse el pollo, en el que induce fuertes hipotensiones. MENDEZ BANER y cols, (1960) han propuesto un método basado en la acción contracturante ejercida sobre tipo de glándula mamaria de coneja lactante. -

También se han desarrollado métodos radioinmunológicos (CHARD y cols, 1970).

MECANISMO DE ACCION

A la vista de las diferentes acciones de la oxitocina y de los trabajos en relación que hacen posible el mecanismo de acción, no puede pensarse que sus efectos se deban a actuación sobre un - único tipo de receptor, sino que al menos han de estar involucrados dos en sus acciones, además de una serie de mecanismos iónicos que luego comentaremos.

Han sido descritos receptores para las acciones metabólicas de la oxitocina en el epididimo (BONNEYCOEN, 1975) así como en el útero SOLOFF (1975) encuentran que la K_d para el receptor es de 1.8×10^{-9} M y la capacidad de unión de 215 fentomoles /ml. Una constante muy similar $K_d = 1.98 \times 10^{-9}$ M ha sido encontrada por CRANKSHAW y col. (1978), que además han observado una distribución paralela para los receptores de oxitocina y 5'/nucleotidasa, datos que parecen confirmar los hallazgos de BOCKAERT y col. (1972) que observan en células epiteliales de rana un efecto estimulante de la adenilciclase por la oxitocina, efecto que, además, es dependiente del calcio extracelular. Por otra parte, los fenómenos eléctricos generados en el útero son también debidos a movilización de calcio pero, esta entrada de calcio en la célula muscular uterina MIRONNEAU, (1976) no parece ocurrir en otras fibras musculares lisas en las que disminuye o abole los potenciales eléctricos MILENOV (1976) y las acciones a diferentes agonistas, en los que la oxitocina bloquea la entrada de calcio.

En relación con la estructura de la oxitocina, puede decirse que el grupo carbonamina en posición 5 es indispensable para su actividad; el grupo carboxamida en posición 9 está relacionada con la actividad intrínseca mientras que el que ocupa la posición 4 y el OH

fenólico en 2 solo se relacionan con la afinidad por los receptores.

Por otra parte, no puede descartarse una mediación en las respuestas uterinas a la oxitocina por prostaglandina WHALLEY (1978) aun cuando SOLOFF y col. (1973) han encontrado que los receptores sobre los que actúan en el útero la oxitocina y las prostaglandinas son diferentes. Se ha observado también que los estrógenos favorecen las acciones uterinas de la oxitocina y que los progestágenos las disminuyen JONES y KNIFTON (1975).

ACCIONES SOBRE LA GLANDULA MAMARIA

Las acciones de la oxitocina se ejercen fundamentalmente a nivel de la glándula mamaria y el útero, pero su nivel fisiológico parece recaer sobre la glándula mamaria. En condiciones normales de lactancia, la succión activa receptores de la glándula mamaria innervados por una vía aferente ipsolateral, situada profundamente en el funículo lateral de la médula EAYRS y BADDELEY (1956) a nivel del cerebro, la vía atraviesa el mesencéfalo asociada al tegmento lateral. En el mesencéfalo rostral se bifurca en dos vías: una, vinculada a la sustancia gris central y otra, ventral, que corre a través de la región subtalámica TINDAL (1969). Esta vía tendría conexiones sinápticas con las neuronas del núcleo paraventricular. De esta forma se establece el reflejo neuroendocrino de la succión que tiene como componente nervioso el descrito anteriormente y como componente hormonal la oxitocina liberada. La existencia de este reflejo fue postulada por ELY y PETERSEN (1941) y posee confirmación experimental; así la sección del tracto para-ventrículo-supraóptico-neurohipofisario o la remoción del lóbulo posterior de la hipófisis inhiben la eyección de leche por falta de oxitocina, GOMEZ (1939); BENSON y ~~SMITH~~ (1966). Por otra parte, RICHARSON (1949) demostró la existencia de células -

mioepiteliales que rodean los alveolos y pequeños conductos de la glándula mamaria, sobre esta célula mioepitelial, efector del mecanismo contractil de la mama es sobre la que actúa la oxitocina.

Es indudable la participación del sistema nervioso central en la secreción de oxitocina inducida por la succión del pezón GAINES (1915) puso de manifiesto que la anestesia general impide la eyección de la leche. Si la llegada del estímulo de la eyección al sistema nervioso central se bloquea por anestesia, el circuito no se cierra y la descarga de oxitocina no se produce. También se demuestra que el efecto es central por el hecho de que la administración exógena de oxitocina al animal anestesiado permita a las crías obtener leche DEIS (1971). Los estímulos emocionales o el estrés puede suprimir la secreción de oxitocina CROSS (1955). Los estímulos dolorosos bloquean la descarga de oxitocina inducida por la succión.

Se han podido determinar en sangre incrementos en las concentraciones de oxitocina después de la succión u ordeño de la glándula mamaria FOLLEY y KNAGS (1966). Estímulos asociados con la rutina del ordeño han sido capaces de elevar la concentración sanguínea de oxitocina CLEVERLEY y FOLLEY (1970). En la rata, se ha demostrado que los estímulos exteroceptivos, como es el ruido que producen las crías y las madres durante la succión, son capaces de inducir la secreción de oxitocina en otra madre no succionada DEIS (1968).

En los seres humanos se ha podido condicionar la secreción de oxitocina a diversos estímulos relacionados con experiencias anteriores a la iniciación de la lactancia, como tomar un vaso de agua, fumar un cigarrillo, etc NEWTON (1961). Hoy se considera que los estímulos exteroceptivos especialmente auditivos y visuales, son parte integrante del reflejo de succión y facilitarían la descarga de oxitocina que actuando sobre las fibras mioepiteliales que rodean a los

alveolos mamarios producirían la salida de la leche desde estos has
ta los grandes senos mamarios.

Aceptando sin reservas este papel de la oxitocina en la eyección de leche, actualmente se estudian las interacciones de esta neurohormona con otras sustancias que actúan también en la eyección láctea; una posible interacción, aunque no muy clara por el momento, es la interacción de la oxitocina con las prostaglandinas WARENYCIA y BAR (1975) estudian las acciones de la oxitocina y prostaglandina E_1 sobre tiras de tejido mamario de conejas preñadas (3 días antes de término) y conejas que están siendo lactadas (11 días después del parto); el tejido de las que daban de mamar era más sensible a la oxitocina y las prostaglandinas parecían disminuir la sensibilidad a la oxitocina. Sin embargo en las preñadas la respuesta a la oxitocina es potenciada por las prostaglandinas.

También se han realizado estudios sobre los componentes de la leche y su modificación por la oxitocina: FULKERSON y McDOWELL (1975) encuentran que la administración de oxitocina intravenosa produce un aumento del contenido en lactulosa, fenómeno que no ocurre en ovejas ovariectomizadas, lo que nos hace pensar en una posible relación de este fenómeno con el ovario. LINZELL y col. (1975) han estudiado la permeabilidad del epitelio mamario de coneja a Na, Cl, K, proteínas y grasas; según estos autores, la oxitocina aumenta el contenido de sodio y cloro en la leche y disminuye la concentración de potasio, proteínas y grasa.

También se ha encontrado que la oxitocina es capaz de producir hiperpolarización de las membranas de las células secretoras del tejido mamario GRACHEW y col. (1975).

ACCIONES SOBRE EL MIOMETRIO

Hasta el momento presente, no existe una clara evidencia acerca del papel de la oxitocina en el parto; para algunos autores parece ser que esta neurohormona está relacionada con el inicio del parto pero según se desprende de los trabajos de FOLEY y KANGS (1965) parece que esto no es así ya que encuentran valores hormonales bajos antes y en la primera etapa del parto, incrementándose en el segundo periodo del trabajo del parto; y en el periodo de alumbramiento los niveles descienden por debajo de los valores del preparto. Estos resultados sugieren que el parto se iniciaría por mecanismos en los cuales no estaría implicada la oxitocina, y al producirse la dilatación del cuello se induciría inmediatamente la secreción refleja de oxitocina (ver SALA y col. 1965 y BOTELLA, 1976), por desencadenamiento del reflejo FERGUSON-HARRIS (ver BOTELLA, 1966). Un dato interesante es que este reflejo no existe en animales no grávidos pero sí durante el parto y en el puerperio. En el terreno experimental, se ha observado que la intensidad de la respuesta contractil de tiras de útero aislado depende de la especie, de que el animal esté o no grávido y del tiempo de la preñez (en este sentido CALDEIRO-BARCIA y POSEIRO (1969) han visto que entre la 20 y 39 semana del embarazo la sensibilidad del útero aumenta 8 veces a la oxitocina; también depende de la fase del estro o del ciclo menstrual del momento en que se obtuvo el tejido y de otros factores aun no aclarados ^ETPPERMAN (1975).

Es sabido que el útero de la especie humana se hace progresivamente sensible a medida que avanza el embarazo y su sensibilidad es máxima a término. Las contracciones inducidas por oxitocina muestran una actividad peristáltica rítmica, con ondas semejantes a las contracciones espontáneas. A dosis mayores se observa un aumento de la frecuencia, la intensidad y el tono basal de las contracciones hasta pro

vocar una contracción tónica LINDMAR Y NILSON, (1976).

Estas acciones de la oxitocina sobre el miometrio pueden modificarse con la administración de estrógenos y progestágenos. Los estrógenos favorecen las acciones de la oxitocina; los progestágenos disminuyen la sensibilidad aunque esto no parece ocurrir en la mujer (TEPPERMAN, 1975). La ovariectomía en la rata, al final del embarazo prolonga el trabajo del parto con nacimiento de crías muertas; estos animales no responden a la oxitocina y son incapaces de alimentar a las crías por fallo en la lactancia; la administración de estrógenos restablece la normalidad en el parto y en la lactancia CATALA y DEIS (1968).

Se han estudiado también las acciones de la oxitocina sobre las propiedades eléctricas del miometrio y según los datos experimentales obtenidos parece existir una relación con los cambios cíclicos aun cuando otros autores piensan que las acciones de la oxitocina no son directas sino mediadas por nucleóticos cíclicos y/o prostaglandinas SUZUKI y KURINAMA (1975) observan que la prostaglandina y la oxitocina tienen efectos similares en el miometrio sobre las respuestas eléctricas, en la rata preñada, aumentando los spikes en la membrana. A altas dosis se comporta como agentes depolarizantes de la membrana pero si esta depolarización continúa se comportan como bloqueantes de la generación de spikes, llegando a la inactivación eléctrica total cuando el tejido es incubado en Ringer Loke's sin calcio.

Por otra parte MIRENNEAU (1976) empleando la técnica de clamp de voltaje para ver las acciones de la oxitocina sobre las corrientes iónicas en tejidos obtenidos de ratas que se encontraban cerca del parto ha observado depolarización de las células del miometrio e incremento de la frecuencia de los spikes; la máxima corriente hacia dentro durante el spike es el 25-30% más alta cuando la oxitocina es

tá presente con respecto a las condiciones control; sin embargo la corriente hacia fuera no es modificada. El resultado final es un aumento de conductancia de la membrana principalmente por movilización del calcio.

NOVY y col. (1975) han estudiado la regulación del flujo sanguíneo de la oxitocina durante el parto puesto que la circulación uterina y la feto-placentaria están unidas y dependen de la contracción del miometrio. Comparan los efectos de la oxitocina y de la prostaglandina E_2 sobre la circulación regional y hemodinámica utero-placentaria en monas rhesus preñadas. El flujo cardíaco fue medido por dilución, valorando el flujo uterino después de la administración y prostaglandina E_2 ; miden también el flujo de placenta, miometrio, cuello y decidua durante el periodo de relajación y de contracción. Según estos autores la placenta queda higiénica durante una contracción inducida por oxitocina. Durante la relajación el miometrio se hace hiperenico, el flujo placentario recobra aunque no totalmente sus niveles normales; el flujo miometrial se mantiene igual a espensas del flujo placentario. Todo ello hace pensar a estos autores que la oxitocina no tiene influencia directa sobre el flujo miometrial sino que sus efectos serían debidos a una mediación por prostaglandina.

La hemorragia "post partum", en el desprendimiento de la placenta, puede ocasionar anemias que complican la evolución del posparto. La oxitocina y la ergometrina pueden ser útiles para disminuir esta hemorragia; recientemente se ha comunicado una equivalencia de dosis entre ambas sustancias siendo 0.2 mg para la ergometrina y 10 U.I. para la oxitocina SORBE (1978).

Por otra parte, el control de la motilidad uterina por oxitocina parece estar relacionado también con el transporte de los espermatozoides.

tozoides después del coito. Se ha observado en bóvidos que la oxitocina incrementa el ascenso de los espermatozoides HAYS y VAN DENMARK (1952). Asimismo se ha visto un incremento de la actividad uterina después del coito, de la estimulación táctil de los genitales externos o de la estimulación mecánica del cuello uterino VAN DENMARK y HAYS (1953). Este aumento de la contracción uterina en especial después del coito posiblemente es inducido por secreción refleja de oxitocina.

ACCIONES SOBRE EL MUSCULO LISO

MILENOV y KASAKOV (1975) y MILENOV (1976) han estudiado el papel de la oxitocina en la regulación del tono general del músculo liso. En dos tipos de experimentos estudian "in vitro" la actividad eléctrica y mecánica de tiras de músculo liso extraído de estómago, tenia coli, ureter y vena porta de coballa. "In vivo" implantan microelectrodos de registro en distintas partes del tubo digestivo: estómago (cuerpo y antro), intestino (yeyuno e ileon) y en útero (cuerpo y cuernos), de perra. En las experiencias "in vivo" la administración intravenosa de 0.2-0.4 U/kg de peso disminuye el tono y abole el peristaltismo en el estómago e ileon al cabo de diez minutos. La administración de atropina (200-300 mg/kg), noradrenalina y adrenalina (10 mg/kg) también abolen el peristaltismo. La oxitocina también reduce o abole los potenciales en estómago e intestino ocasionando rápidos cambios de voltaje. Por contra en útero aumenta la frecuencia de potenciales. Estas acciones de la oxitocina no se afectan por la denervación ni por la adición de atropina y bloqueantes adrenérgicos.

En los experimentos "in vitro" 30 mU/ml y dosis más elevadas disminuye la intensidad y la amplitud de las contracciones de estóm

go, tenia coli, ureter y vena porta. Los bloqueantes colinérgicos antagonizan estas acciones mientras que los bloqueantes adrenérgicos no las modifican.

ACCIONES SOBRE EL METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

La Oxitocina en el hígado de rata aislado y perfundido induce glucogenolisis WHITTON y HEMS (1976). Aun cuando estos autores no se atreven a postular un significado fisiológico relevante para esta acción. Relacionado con efectos insulin-like, BONNE y COHEN (1975) han caracterizado dos tipos de receptores para la oxitocina en el epididimo de rata, uno que se satura con concentraciones en el medio de 5 nM, la misma concentración de oxitocina que induce el máximo incremento de oxidación de glucosa por estas células. El otro tipo de receptores aunque específicos, no tienen la relevancia fisiológica de los primeros por cuanto se saturan con dosis de Oxitocina superiores a las necesarias para producir la máxima respuesta bioquímica. Estos receptores tienen una capacidad limitada. Se estima que existen en número de 3×10^4 por célula. Según parece, la afinidad de la Oxitocina por los receptores, aumenta al incrementar la concentración de Oxitocina en el medio, mientras que la oxidación de glucosa, disminuye al aumentar la ocupación de los receptores.

Del trabajo de BONNE y COHEN (1975) se desprende también que los receptores para la Oxitocina tienen distinta entidad de los que son sensibles a glucagón, insulina, y corticotropina. También han podido observar que la diamino-oxitocina tiene una mayor afinidad por estos receptores que la propia oxitocina.

La insulina disminuye los niveles de AMP_c al mismo tiempo que estimula la oxidación de glucosa en los lipocitos, tal vez por reducir la actividad de la adenilciclase. La Oxitocina en cambio, no disminuye los valores basales ni la actividad adenilciclase inducida por adrenalina en los lipocitos por lo que parece que los receptores de membrana para la Oxitocina no están conectados directamente con el sistema adenilciclase.

En resumen, la Oxitocina posee un efecto insulin-like "in vivo" cuya significación permanece oscura.

ACCIONES CARDIOVASCULARES

BOISSONNAS (1960) y BISSET (1961) encuentran que la Oxitocina tiene acción hipotensora en la rata y en el pollo solamente cuando el puente disulfuro está cerrado. Por el contrario, GREENWAY (1970) afirma que la Oxitocina tiene efecto hipertensor y que este efecto no se abole con la reducción del puente disulfuro.

Por otra parte, estudios con antagonistas competitivos de la Oxitocina (tioglicolato) sugieren que el efecto hipertensor de la Oxitocina sobre los vasos sanguíneos no es debido a la destrucción de su molécula MARTIN y SCHILD (1964) sino que, además de no ser el enlace disulfuro el responsable de estos efectos, se ha demostrado que la sustitución en posición 8 de glicina por valina y asparagina produce un efecto hipotensor considerablemente menor mientras que la 1-deamino-oxitocina, es un potente agente depresor SCHALLY y col. (1974). La introducción de grupos básicos en posición 8 consigue un potente efecto hipertensor y antidiurético BERDE y col. (1974) y BOISSONNAS (1960). El mismo efecto hipertensor y antidiurético que se consigue sustituyendo la isoleucina en posición 3 por anillos - aromáticos BOISSONNAS (1956), pero cuando se sustituye por fenilalanina, adquiere características hipotensoras aunque aumente su acción antidiurética.

No parece probable para CORT y col. (1974) que las acciones - cardiovasculares de la Oxitocina sean mediadas por catecolaminas, serotonina, histanina, prostaglandinas, gradikinina, angiotensina u otras sustancias vasoactivas.

Se ha postulado que ni alfa ni beta receptores están involucrados en las acciones circulatorias de la Oxitocina aunque existen algunos datos acerca de la actividad simpática de estos péptidos puesto que aunque se ha demostrado NAKANO (1974) que la acción hipertensiva de la Oxitocina ocurre aun en el animal reserpinizado, ERKER y CHAN (1977) encuentran que la fenoxibenzamina y fentolamina potencian el efecto presor de la Oxitocina, mientras que el propranolol no la afecta y la combinación de fenoxibenzamina y propranolol no alteran el potenciamiento producido cuando se administra únicamente la fenoxibenzamina.

Generalmente, los efectos circulatorios de la Oxitocina son de muy corta duración en el hombre y en diversas especies animales, y como norma, su duración es menor que las de la vasopresina. Como se demuestra por medidas de flujo sanguíneo realizadas en el perro por LLOYD y PICKFORD (1962) y en el hombre KITCHIN y col. (1959) o los efectos hipotensivos en gato WOODBURI y ABREU (1944) y en el hombre KATZ (1964); ANDERSEN y col. (1965). La acción vasodilatadora de la Oxitocina dura generalmente 5 minutos y depende no solo de la dosis sino también de la reactividad individual a los péptidos BROTHANEK y KAZDA (1965) y está en relación con la edad de gestación.

Durante el embarazo su efecto dura de 2 a dos minutos y medio y en el posparto la duración es tan solo de 30 segundos. También tiene escasa duración sus efectos electrocardiográficos RIBOT y col (1964) y KATZ (1963), con excepción de su acción antiarrítmica que dura 90 minutos BODEUR y BEAULNES (1963).

Estudiando los efectos sobre el músculo liso arterial CATCHIN y col (1964) no encuentran modificaciones de la contractividad de la arteria uterina con dosis de hasta 40 mU/ml. Sin embargo se ha visto que la Oxitocina tiene un potente efecto vasoconstrictor de -

arterias y venas umbilicales SOMLYO y col. (1965).

En corazón aislado de conejo, 10-100 mU/ml la Oxitocina disminuye la amplitud de la contracción cardíaca y produce vasodilatación coronaria WOODBURY y ABREU (1944). COVINO (1963) encuentra que 15-30 mU/ml de Oxitocina aumenta en un 30% la amplitud de las contracciones el músculo capilar de gato, con 60 mU/ml no se produce disminución de la amplitud de las contracciones espontáneas de la aurícula y con 90 hay una disminución de la frecuencia pero no de la amplitud. La contracción disminuye con dosis comprendidas entre 80-320 mU/ml NAKANO y FISHER (1963). Se ha observado que las dosis terapéuticas no ejercen efecto directo positivo o negativo, sin embargo las grandes dosis que son necesarias para provocar el aborto terapéutico pueden producir fuerte hipotensión. Se ha comunicado recientemente que la Oxitocina en el curso de la anestesia puede producir venoespasma ANDERSEN (1975) y (1976).

La Oxitocina produce una discreta natriuresis CORT (1966) en algunos animales de experimentación. Sin embargo, en la especie humana no produce ninguna acción sobre la excreción de agua y electrolitos, pero si se utilizan dosis altas se puede poner de manifiesto su efecto antidiurético pudiendo incluso llegarse a la intoxicación hídrica cuando en esta circunstancia se administran líquidos por vía endovenosa SANNDERS y MUNNSICK (1966); AHMED y col. (1975)

OTRAS ACCIONES

La Oxitocina en la administración intravenosa (1ugr) no modifica los valores de LH circulante VAUGHAN y col. (1978). A la dosis de 1 UI-3 horas/48 horas no modifica la tasa de LH en la hipófisi de ratas macho, normales pero cuando los animales son castrados disminuye los valores plasmáticos de FSH y prolactina VAUGHAN y col. (1979).

Por acción de la Oxitocina aumenta la mitosis en la adenohipófisis de ratas tiroidectomizadas y se opone a la acción inhibidora de la hormona tiroidea sobre el crecimiento hipofisario PAWLI-KOWSKY y col. (1975).

La actividad contráctil de los ovarios "in vitro" es incrementada por la oxitocina STEIN-BORDA y col. (1976) efectos que son más importantes en el ovario izquierdo y con una variación en cuanto a la fase del ciclo.

Se ha señalado la existencia de relación entre la ictericia neonatal y el uso de Oxitocina durante la inducción del parto CHALMERS y col. (1975) debida a una posible afectación de la bioquímica de los eritrocitos OSKI, (1975). El mismo efecto ha sido señalado por ALDER y col. (1974) para las prostaglandinas E_2 .

Uno de los metabolitos de la Oxitocina, la pro-leu-gly-NH₂ es un inhibidor "in vitro" e "in vivo" de la liberación de MSH en la hipófisis de rata CELIS y col. (1972) y (1975). Recientemente - se le ha observado también capacidad como inhibidor del factor estimulante de la liberación de ACTH VOIGT y col. (1977) así como responsable de una serie de acciones sobre el comportamiento: revierte el temblor inducido por oxitremorina, induce comportamiento estereotipado y compulsivo en el gato y potencia los efectos inducidos por apomorfina en la rata WALTER y HOFFMAN, 1977, también se ha comprobado que antagoniza la amnesia inducida por puromicina WALTER y col. (1975).

La Oxitocina, también presente en el macho no tiene por ahora un claro significado. Algunas acciones que sobre él se han descrito se recogen en el apartado que justifica el tema elegido para la realización del presente tema doctoral.

USOS CLINICOS

La Oxitocina puede utilizarse en varias situaciones clínicas

- A) Durante la lactación para conseguir el alivio de la plétora mamaria. Se administra por vía intranasal de 2 a 3 minutos antes de que la criatura comience a mamar. Pero la Oxitocina al no ser galactopoyética no debe administrarse por tanto cuando el proceso subyacente es la insuficiencia en la secreción de leche BRAZEAU (1978).
- B) Inducción del parto a término. Debe administrarse por infusión intravenosa continua en soluciones diluidas. Una concentración de 10 mU/min es suficiente para este fin. La infusión se inicia a razón de 0.5 ml/min. Si no hay efecto se aumenta la dosis hasta 2 ml/min, la dosis total requerida para iniciar el parto varía entre 6 y 12 U, con un promedio de 4. Pueden emplearse también pastillas de oxitocina para chupar y disolverse en la boca pero aunque se consigue buena absorción carece de la exactitud y flexibilidad de la infusión intravenosa. En cambio, tiene la ventaja de poder suprimir la acción del fármaco sacándolo de la boca. Debe cuidarse la aparición de hipertonía uterina. Sobre todo en el parto a término, la inducción tiene éxito en el 80 al 90% de los casos. Ante el riesgo de producir hipertonos uterinos HUBENOV (1975) ha reiterado la necesidad de utilizar Oxitocina solo cuando el cuello esté dilatado y para evitar tetanismos recomienda el incremento gradual de la dosis. En el mismo sentido se pronuncia LYKESSFELDT (1976) para la administración de Oxitocina y de amino-oxitocina intrabucal. Por este mismo riesgo se aconseja no utilizarla en el primer y segundo periodo del parto excepto en algunos casos de hipocontractilidad uterina, estos estados han sido caracterizados por SEITCHIT y CHATKOFF (1975).

Actualmente se sabe que pueden asociarse con éxito las Oxitocinas y prostaglandinas BEAZLEY y GILLESPIE (1971). La combinación más efectiva parece ser la formada por PGE_2 a la dosis de 2 μ g/min y Oxitocina 128 mU/min en administración intravenosa GILLESPIE y col. (1972) BEAZLEY (1973)

- C) Primero y segundo periodos del parto. No debe utilizarse si progresa el feto aunque sea lentamente puesto que si el útero es estimulado con mucha fuerza sobre un cuello completamente dilatado y rígido pueden producirse desgarros uterinos y traumatismos para la criatura (Ver BOTELLA 1966); solamente debe utilizarse en la inercia uterina prolongada y pertinaz en las pacientes que no presenten desproporción pélvico-cefálica
- D) Tercer periodo y puerperio. Puede usarse en el tercer periodo del parto para disminuir el tiempo del periodo expulsivo.

Al mantener el útero activo y firme después de la expulsión de la placenta, disminuye la incidencia y cantidad de la hemorragia posparto. Esto hizo que durante algún tiempo se utilizase la Oxitocina para controlar el posparto, pero hoy ha sido sustituida por la ergometrina. En virtud de su baja toxicidad, rápido efecto y acción sostenida.

- E) Aborto terapéutico. La Oxitocina, aun en grandes dosis se muestra menos eficaz que las prostaglandinas.
- F) Test de Oxitocina. Se basa en la observación clínica de la deceleración que sufre el corazón fetal durante la contracción uterina en el parto, lo que supone un estrés fetal. En esencia, trata de adivinarse la vulnerabilidad fetal al estrés del parto. La significación de los resultados positivos es clara según FREEMAN y col (1973). El test de la Oxitocina puede ser útil para evaluar varios

factores de riesgo: diabetes sacarina, hipertensión, alteraciones renales, retardo clínico del crecimiento intrauterino, embarazo prolongado.

No obstante se han comunicado casos en los que ha fracasado el test. HAYDEN y col (1975) KLAPHOLZ y BURKE (1975). Según parece no debe utilizarse en madres hipertensas. (ver ROMANINI y col. (1974).

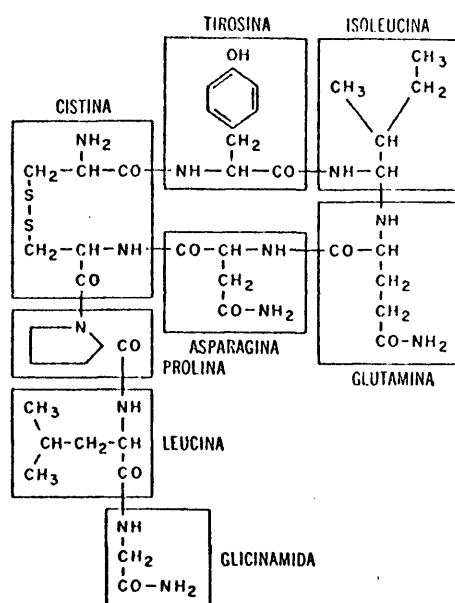


FIG. 1. Estructura de la oxitocina.

MORFOLOGÍA DE LOS SISTEMAS NEUROENDOCRINOS

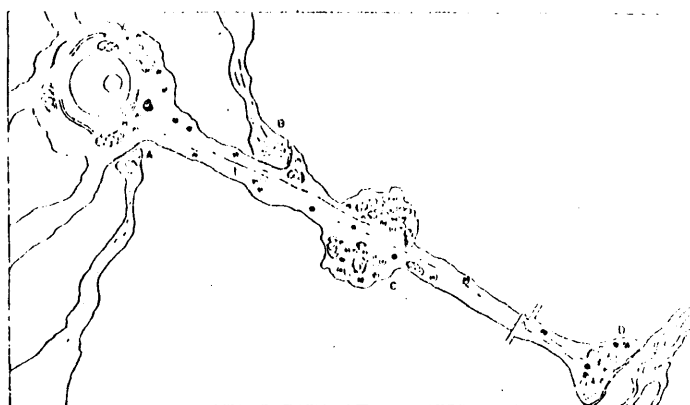


Fig. 3. Neurona neurosecretora, que muestra una sinapsis axosomática de tipo aminérgico A; una sinapsis axoaxónica colinérgica B; un cuerpo de Herring C y la terminación neurosecretora D.

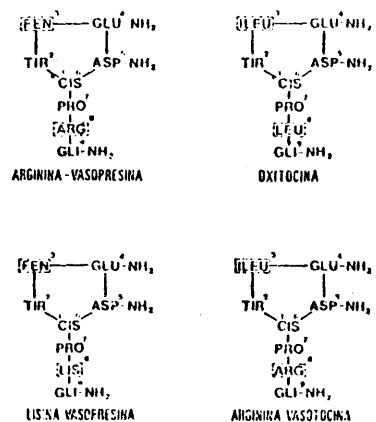


Fig. 2

MELATONINA

La melatonina, 5-metoxi-N-acetil-triptamina, es una sustancia que se encuentra localizada en la glándula pineal, (LERNER y cols, 1958), de los mamíferos superiores, aves, reptiles, anfibios, y peces (un buen trabajo sobre la evolución de la glándula pineal en las distintas especies ha sido publicado recientemente por BARDA--SAND (1979)).

La glándula pineal humana es una estructura de aproximadamente 8 mm de longitud, de forma cónica y color rojizo que ocupa el espacio comprendido entre los dos tubérculos cuadrigéminos anteriores. Su base, dirigida hacia adelante, se inserta, mediante un tallo o pedúnculo de sustancia blanca, en el cerebro (GRAY, 1949).

En la glándula pineal, la serotonina es transformada en N-acetil-seratonina, que mediante la acción de la hidroxil-indol-metil-transferasa, HIOMT, queda convertida en 5-metoxi-acetil-triptamina o melatonina. El control de esta síntesis corre a cargo de la noradrenalina como han puesto de manifiesto AXELROD y cols (1966) que empleando cultivos de glándula pineal, a los que añadían noradrenalina, observaron un aumento de la formación de melatonina a partir del triptofano, lo que sugiere una participación de la noradrenalina sobre los pinealocitos en la síntesis de melatonina; por otra parte, supone también, que la noradrenalina podía actuar indirectamente aumentando la formación de AMP (SCHEIN y WURTMAN, 1969; y AXELROD, 1970).

La cantidad de serotonina en la glándula pineal presenta variaciones diarias. El nivel más alto se obtiene a las 13,00 horas y el más bajo a las 23,00 horas (QUAY, 1963). Este ritmo circadiano es endógeno puesto que, como ha demostrado SNYDER y cols (1967), no sufre alteración en ratas cegadas y mantenidas en total oscuridad.

Un ritmo similar se ha observado también en la noradrenalina, WURTMAN y cols. (1967), pero en este caso el nivel más alto aparece por la noche y el más bajo durante el día. Por contra, este ritmo es exógeno puesto que desaparece cuando se mantiene a los animales con luz u oscuridad continua.

Parejas variaciones se han hallado en la HIOMT (KLEIN y WELLS, 1970). La actividad de la N-acetil-transferasa es quince veces mayor durante la noche que durante el día, sin sufrir alteraciones en animales mantenidos en total oscuridad y anulándose, por el contrario, en aquellos sometidos a la presencia constante de luz. Por tanto, - parece lógico pensar, que la noradrenalina, y no la serotonina, es la encargada de regular la acción de la HIOMT a través de receptores de alta especificidad.

A la vista de estas referencias puede decirse que la síntesis de melatonina es mayor durante las horas de sueño u oscuridad, y - que sigue un ritmo circadiano en respuesta directa al ciclo natural de 24 horas.

Cabe decir, que en el hombre el ritmo no solo es diario sino - que también se observa un ciclo estacional, ya que las tasas más elevadas de melatonina aparecen en Enero y Julio, y las más bajas en Mayo y Octubre (AREND y cols. 1978).

Acciones de la melatonina sobre el desarrollo y crecimiento de las gonadas.

Las acciones inhibitorias de la melatonina son: Disminuye el peso de los ovarios, retrasa la aparición de la pubertad en las hembras, y, reduce la frecuencia del estro de las ratas, WURTMAN y cols (1963). También reduce el peso de las vesículas seminales en las ratas machos, KAPPERS (1962), MOSKOWSKA (1965).

RABADAN y cols. (1977) describe disminución del peso de la -
prostata, ovario y utero, pero no encuentra disminución en el peso
de los testículos.

Los efectos de inhibición de la melatonina sobre los órganos
reproductores no son directos, pues están mediatizados por la FSH y
LH. La melatonina reduce significativamente la secreción de LH, pe-
ro no modifica la liberación de FSH, esto explicaría por una parte,
la disminución del peso de la próstata y vesículas, y por otra, el
mantenimiento constante del peso de los testículos, y daría pie a
pensar que existen otras sustancias epifisarias que pueden tener ac-
ción sobre las gonadotropinas, ISAAC y cols. (1964), y que serían
las responsables del aumento de peso de los testículos descrito por
HOUSSAY y PAZO (1966), y confirmado por MOTAY cols. (1967).

Recientemente, VAUGHAN y cols. (1978) han observado en ratas
machos pretratadas con estrogenos más progesterona que la adminis-
tración intravenosa de 10 ugr. de melatonina produce, a los 10 minu-
tos de efectuada la administración, un aumento circulante; en cam-
bio, los mismos autores en otro trabajo, VAUGHAN y cols. (1979) no
llegan a demostrar aumento de la LH en la hipofisis de ratas castra-
das a las que se les administraba 250 ugr. de melatonina durante 48
horas a intervalos de 3 horas.

La administración de melatonina a ratas machos adultas produ-
ce una disminución del contenido de FHS hipofisaria, DEBELJUK y cols.
(1970), este efecto es negado por FRASCHINI y MARTINI (1970) que po-
tulan dos vías diferentes en el control que ejerce la glándula pineal
sobre las gonadotropinas adeno-hipofisarias: una mediante el 5-metoxi-
triptofol y la serotonina, responsables exclusivos de la secreción
de FSH, y otra vía, representada por la melatonina y el 5-hidroxi-
triptofol que regularían la liberación de LH.

Tanto la castración como la pinealectomía, ocasionan un aumento de la producción y almacenamiento de LH en la adenohipofisis, siendo este efecto inhibido por melatonina.

Todas estas acciones de la melatonina sobre la síntesis y liberación de las gonadotropinas hipofisarias, y en concreto, sobre la LH, ha motivado su utilización en el presente trabajo intentando --evitar la influencia de la LH sobre la contractilidad del conducto deferente.

CYPROTERONA

El acetato de Cyproterona es el 6-Cloro-17-hidroxi-1, 2 -metilén pregna-4,6-dieno-3,20-diona-acetato, antiandrogeno derivado de la progesterona.

La Cyproterona se ha utilizado con éxito en el tratamiento del cancer de prostata, WEINSTEIN y MURPHY (1973); en el acné; la seborrea; y el hirsutismo, SCHINDLER y cols. (1978). También se han encontrado resultados positivos en el tratamiento de la pubertad precoz, GIRARD (1978).

Por su acción antiandrogénica se pensó en sus posibilidades como antifertilizante masculino, pero los resultados obtenidos hacen indeseable su administración para este fin puesto que produce una disminución de la espermatogénesis. En este mismo campo se ha comprobado en monos rhesus (10 a 40 mg. día, durante tres meses) una disminución de la función testicular de las glándulas accesorias y del comportamiento sexual, efectos que permanecen aún después de suspendido el tratamiento (MICHAEL y cols. 1973).

En gran número de individuos que seguían tratamiento con acetato de cyproterona, STEINBECK y cols. (1971) han podido observar la existencia de un efecto inhibidor de la excitación sexual humana, efecto que para LASCHET y cols. (1967) sería revertido con la supresión del tratamiento.

Según DOMENICO y NEUMANN (1967) el acetato de cyproterona no solamente antagoniza los andrógenos sino que también ejerce una acción inhibidora de las adrenales, posiblemente por depresión de la ACTH.

En la rata preñada produce feminización de los fetos masculinos, HAMADA y cols. (1963), mientras que en la rata en crecimiento

el acetato de cyproterona hace disminuir el peso corporal, el peso de las vesículas seminales, de la próstata y del músculo elevador del ano, aumentando por contra el peso de los testículos y no ejerciendo variaciones significativas en el peso de las adrenales STEINBECK y NEUMANN (1971).

En el animal adulto produce una atrofia de las vesículas seminales, próstata, músculo elevador del ano, y en general de todos los órganos que responden a los andrógenos; en la hipófisis sus efectos son similares a los de la castración con un aumento en la secreción de gonadotropinas, NEUMANN (1966).

Sin embargo este efecto no ha podido ser observado en el varón JACKSON y JONES (1972).

La secreción de gonadotropinas hipofisarias no se afecta o se afecta en escasa magnitud no existiendo elevación de las tasas de FSH plasmáticas y se requieren grandes cantidades para aumentar la concentración de LH, WALSH y cols. (1972), lo cual, según estos autores, sería aprovechable para medir la reserva de LH en el varón.

Al igual que la medroxi-progesterona, la cyproterona tiene efectos antiandrogénicos pero su sitio de acción es diferente, puesto que mientras la medroxi-progesterona actúa de forma indirecta frenando la síntesis de gonadotropinas, el acetato de cyproterona actúa a nivel de los receptores hormonales impidiendo la unión de la 5- α -dihidrotestosterona a los receptores citoplasmáticos de las células efectoras, MAINWARING y cols. (1973).

FABRINI y cols. (1977) han demostrado que el acetato de cyproterona produce alteraciones morfológicas y funcionales sobre los túbulos seminíferos, compitiendo sobre el receptor androgénico con la testosterona y siendo el resultado final de todo ello una alteración

en el desarrollo y función de las fibras musculares.

El acetato de cypoterona ha sido utilizado en nuestro modelo experimental por no tener acciones centrales ya que todas sus acciones antiandrogénicas están localizadas a nivel periférico.

CONDUCTO DEFERENTE

RECUERDO HISTORICO

BUDGE (1858), fue el primer investigador que estudió la inervación de los órganos genitales del macho, observando en el conejo que al ser estimulado el ganglio mesentérico inferior, o el nervio hipogástrico, se producían contracciones en el conducto deferente. Observó así mismo, que también se obtenían contracciones al ser estimuladas las comunicantes lumbares del ganglio.

Continuando las investigaciones de BUDGE, LOEB (1866), describió la contracción de las vesículas seminales como respuesta a la estimulación del nervio hipogástrico.

En 1886, REMY observó la contracción del conducto deferente de cobayo por estimulación del ganglio mesentérico inferior. En la misma línea, SHERRINTONG (1895) describió la contracción del conducto deferente al ser estimulados el 1º, 2º, y, 3º ganglio torácico del "macacus rhesus", y, el 3º y 4º lumbar en el gato.

LANGLEY y ANDERSON (1894, 1895, y 1896) demostraron que en el conejo las fibras eferentes del conducto deferente y de las vesículas seminales salían del 3º, 4º, 5º y algunas veces, del 2º segmento lumbar, y hacían escala en el ganglio mesentérico inferior, por otra parte, vieron que las fibras motores procedían del nervio hipogástrico, y la estimulación de este nervio producía la contracción del conducto deferente y de las vesículas seminales, contracción que no se obtenía si era estimulado el nervio pélvico o cualquiera otro nervio de la región.

AKUTSO (1903) sugiere que las fibras pregangliónicas de los órganos relacionados con el ganglio mesentérico inferior están localiza

das en un ganglio periférico, situado en la base de las vesículas seminales.

Las células nerviosas en el plexo de algunas especies animales fueron descritas por varios investigadores (LEYDING, 1850; REINERT, 1869; TIMOFEEV, 1894; DISSELHORST, 1897 y 1904; G. MULLER, 1904), - sin embargo, las células ganglionares del plexo nervioso de la próstata, fueron demostradas en 1835 por JOHANNES MULLER. La existencia de estas células nerviosas distales al nervio hipogástrico, ha sido confirmada recientemente por MERRILEES, BURNSTOCK y HOLMAN (1963); VANOV y VOGT (1963). La histología del plexo nervioso en cuestión, fue motivo de estudio para MULLER y DAHL (1912), llegando a demostrar la existencia de células ganglionares en varias zonas del plexo pélvico del hombre, y concluyendo, que la próstata, las vesículas seminales y el conducto deferente, están inervados preferentemente por fibras amielínicas presumiblemente originadas en células nerviosas del plexo pélvico.

En 1931, BACQ observó como la destrucción de la cadena lumbar simpática, en los roedores, causa esterilidad temporal en los machos. Si por el contrario, se produce una resección del ganglio mesentérico inferior y del nervio hipogástrico, la esterilidad que se origina es permanente. La regeneración preganglionar es rápida y completa y destaca frente a la lenta regeneración postganglionar (LANGLEY, 1897).

En la próstata del toro COLLIP (1929) describe una sustancia - presora similar a la Adrenalina. En 1934, VON EULER observó como la próstata, vesículas seminales, ampolla (glándula del conducto deferente), y conducto deferente de distintas especies animales, contienen una cantidad considerable de material adrenérgico. Posteriores experimentos de este autor permitieron descubrir células cromafines en la próstata del gato, postulando su existencia en el resto de los

órganos accesorios del macho.

Estudios electrofisiológicos recientes han podido confirmar los trabajos de LANGLEY y ANDERSON (1894) sobre la teoría sostenida por estos autores de que la mayoría de las fibras del nervio hipogástrico son amielínicas.

En 1937, ADRIAN, BRONK y PHILLIPS, usando gatos y conejos, mediante descargas eléctricas y midiendo la conducción de las fibras, encontraron que la mayoría de estas eran del grupo C, pero no encontraron actividad para fibras del grupo B. Investigando la patología de las fibras pre y postganglionares del ganglio mesentérico inferior del gato, LLOYD (1937) pudo también observar como la mayoría de las fibras pertenecían al grupo C, mientras que solo una pequeña proporción eran del grupo B.

BURNSTOCK y HOLMAN (1961), en su trabajo fundamental sobre transmisión nerviosa en la fibra muscular lisa, describen que la velocidad de conducción de las fibras del nervio hipogástrico del cobayo es de 0.9 m/seg, velocidad que corresponde a las fibras C del simpático. Los resultados obtenidos les hace presumir que la mayoría de las fibras del nervio del conducto deferente son postganglionares.

En 1965, SJÖSTRAND demuestra la existencia de fibras adrenérgicas cortas, que corresponderían a los acúmulos adrenérgicos descritos por otros autores, describiendo también como el contenido de las catecolaminas del conducto deferente y de los órganos accesorios no se altera por la denervación.

Por otra parte, FERRY en 1967, describe en un trabajo definitivo las características de la inervación y transmisión del conducto deferente; para ello no solo usa técnicas histológicas, sino preparaciones farmacológicas, conducto deferente-hipogástrico, tanto en vitro -

como en vivo; también utiliza determinadas técnicas electrofisiológicas de los potenciales de acción. Las conclusiones finales a que le indujeron sus trabajos son:

- 1) Los componentes del potencial de acción del nervio hipogástrico contienen dos fases, una debida a fibras de bajo umbral y alta velocidad de conducción (1.5-10m/seg), y otra de umbral alto y lenta velocidad de conducción (10m/seg). También observó como este nervio posee una pequeña cantidad de fibras mielínicas y gran cantidad de amielínicas.
- 2) La existencia de células nerviosas en los dos últimos cm del nervio hipogástrico. Concluyendo que existen estas células ganglionares en la proximidad íntima del conducto deferente, y por lo tanto, no todas las fibras que llegan al conducto son postganglionares.

La revisión de los autores que más han trabajado en este tema es concluyente en el sentido de que la inervación motora del conducto deferente y de las glándulas accesorias del aparato genital provienen del simpático lumbar, y en el caso de los promates probablemente también del segmento torácico. Estas fibras simpáticas penetran en la pelvis por vía del nervio hipogástrico.

La localización de las neuronas postganglionares, todavía no está del todo clarificada, pero la opinión general se inclina a pensar que estas fibras emanan del ganglio mesentérico inferior. Recientes estudios han demostrado cantidades importantes de material adrenérgico en los órganos genitales accesorios, pero su naturaleza y localización no se encuentra aun aclarada. También han sido demostrados plexos nerviosos en estos órganos, y células nerviosas en su vecindad pero la naturaleza de estas estructuras nerviosas citadas permanece

aún hoy oscura.

Durante estos años las investigaciones encaminadas a obtener preparaciones farmacológicas para llegar al esclarecimiento del funcionamiento del conducto deferente, así como de los órganos genitales accesorios, han sido importantes y tenemos especial interés en destacar por su importancia y contribución, la preparación "conducto deferente aislado y estimulación eléctrica del nervio hipogástrico", introducida por HUKOVIC (1961), modelo muy interesante para el estudio de la transmisión adrenérgica. La técnica de la denervación descrita por BIRMINGHAM (1963), y por último, la de más reciente aparición de estimulación de campo en el conducto deferente aislado descrita por AMBACHE (1971).

SINOPSIS HISTORICA: CONDUCTO DEFERENTE

1858	BUDGE	Observa por 1ª vez que la estimulación del ganglio mesentérico inferior y del nervio hipogástrico produce contracción del conducto deferente de las vesículas seminales.
1892	SHERRINTONG	El estímulo de los segmentos torácicos produce contracción del conducto deferente.
1894	LANGLEY y ANDERSON	Las fibras motoras proceden del nervio hipogástrico.
1912	MULLER y DAHL	Inervación del conducto deferente - por fibras amielínicas originadas - en células nerviosas del plexo pélvico.
1929	COLLIP	Describe una sustancia presora similar a Ad. en próstata de toro.
1937	V. EULER	Observa en conducto deferente y glándulas genitales accesorias tejido - cromafín.
1937	LLOYD	Fibras que inervan conducto deferente del grupo C.
1961	BURNSTOCK y HOLMAN	Velocidad de conducción 0.9 m/seg. Grupo C.
1961	HUKOVIC	Técnica: nervio hipogástrico- conducto deferente aislado . estudio de la transmisión adrenérgica.
1963	BIRMINGHAM	Técnica de denervación
1965	SJÖSTRAND	Demuestra la existencia de neuronas adrenérgicas cortas en la inervación del conducto deferente.
1967	FERRY	Pone de manifiesto la existencia en los dos últimos cm. del nervio hipogástrico de células ganglionares.
1971	AMBACHE	Técnica de estimulación de campo y estudio de la neurotrasmisión y los factores que la modulan.

ANATOMIA DEL CONDUCTO DEFERENTE

NOMENCLATURA

La denominación correcta en nuestro idioma es la de "conducto deferente", usándose también los términos de "vaso deferente" y "ductus deferente".

En nomenclatura internacional se denomina "vas deferens" y "ductus deferens".

DIMENSIONES.

Su longitud aproximada en la rata es de 30 a 50 mm. Su diámetro medio en su parte media oscila entre los 1.5 y 2.5 mm, este diámetro aumenta gradualmente a medida que nos acercamos a su extremo terminal, encontrándose prácticamente duplicado en la porción cercana a la uretra con respecto a la porción que se encuentra cerca del epididimo.

FORMA Y CONSISTENCIA

El conducto deferente presenta en la mayor parte de su extensión una forma regularmente cilíndrica. Su porción terminal, no obstante, difiere del resto: al mismo tiempo que aumenta de calibre, se va aplanando ligeramente; esta porción termina en una glándula del conducto deferente que ha recibido el nombre de: "glándula ampullar" o "ampolla del conducto deferente".

En todo su recorrido y principalmente en la porción que contacta con la ampolla, el conducto deferente tiene una consistencia sólida característica que debe al notable espesor de sus paredes.

TRAYECTO

El conducto deferente se inicia continuando al conducto epididimario, y se dirige de abajo hacia arriba paralelamente al epididimo.

mo. Posteriormente se separa del epididimo, y mezclado con la grasa que existe alrededor del testículo, se dirige verticalmente hacia arriba, saliendo por el conducto inguinal hasta llegar a la cavidad pélvica para terminar en la parte posterior de la vejiga.

DIVISIONES

A lo largo de su recorrido desde las bolsas testiculares hasta la pelvis, el conducto deferente puede dividirse desde el punto de vista anatómico en dos porciones fundamentales:

A) "Pars ureteralis": es la porción más gruesa antes descrita, que termina en la ampolla del conducto deferente por detrás de la vejiga. Es la parte que mayor cantidad de fibras musculares posee y - por lo tanto es muy importante para la contracción del conducto.

B) "Pars epididimalis": se encuentra en contacto con el epididimo, es mucho más fina y tortuosa. En ella se pueden distinguir a la vez varias partes: "caput epididimi" que se encuentra enrollada alrededor del pelo anterior del testículo, recibe de éste la red de finos vasos que se denomina "vasa efferentia". "Corpus epididimi" - que conecta el caput y el cauda entre sí. "Cauda epididimis", es - la parte final de la porción epididimal y se continua con el conducto propiamente dicho.

VASCULARIZACION

Los conductos deferentes, desprovistos de glándulas netamente diferenciadas, constituyen, por decirlo así, simples conductos vectores de esperma, por lo que debido a su misión pasiva no necesitan vascularización.

A) Arterias. - Las arterias de los conductos deferentes son las arterias espermáticas, la derecha sale directamente de la aorta, -- mientras que la izquierda lo hace de la arteria renal del mismo lado.

B) Venas. - Las venas, al igual que las arterias, son las venas espermáticas, y tanto la derecha como la izquierda, son ramas de la vena cava inferior.

Las arterias y las venas espermáticas terminan en un lecho capilar que se denomina plexus pampiniforme

C) Linfáticos. - Los linfáticos del deferente se disponen probablemente en dos redes, una en la mucosa y otra en la muscular.

D) Inervación. - Por la importancia que tanto desde el punto de vista farmacológico como fisiológico tiene la inervación, y por la gran cantidad de problemas que plantea, vamos a dedicar un estudio más detenido a la inervación del conducto deferente.

El conducto deferente como todos los órganos pélvicos, recibe inervación del simpático y del parasimpático.

Las fibras simpáticas emanan del ganglio mesentérico inferior, y a través del nervio hipogástrico, llegan al deferente. Las fibras preganglionares, que llegan al ganglio mesentérico, emanan de la cadena simpática L_4, L_5, L_6 . Otras ramas llegan al ganglio mesentérico inferior del ganglio mesentérico superior y del estrellado como puede observarse en la fig: . Del ganglio mesentérico inferior, - emerge el nervio hipogástrico que se dirige hacia la pelvis.

Cuando el nervio hipogástrico llega a los órganos pélvicos, - forma un plexo que se denomina plexo pélvico. Este plexo está situado en el tejido conectivo de los distintos órganos.

SJÖSTRAND (1965) ha demostrado la existencia de inervación - del conducto deferente y las glándulas accesorias por neurona adrenergicas cortas. FERRY (1967) ha puesto de manifiesto la existencia de células ganglionares en los dos últimos centímetros del nervio -

hipogástrico, es decir que dentro del tejido conectivo existen células ganglionares. Así pues el hipogástrico lleva fibras postganglionares que tienen su neurona en el ganglio mesentérico inferior y fibras preganglionares que hacen sinapsis en las células ganglionares descritas anteriormente.

Las fibras parasimpáticas proceden de la región sacra, y forma dos nervios llamados nervios pélvicos: uno derecho y otro izquierdo. Estas fibras parasimpáticas penetran, junto con las terminaciones simpáticas del hipogástrico, en los distintos órganos.

Los datos antes citados referentes a la inervación del conducto deferente han sido extraídos de los trabajos realizados en diversas especies animales por: LANGLEY y ANDERSON (1896), LEARMONTH (1931), TRUMBLE (1934), y MICHELL (1953).

HISTOLOGIA DEL CONDUCTO DEFERENTE.

El conducto deferente está constituido por tres capas que de fuera adentro son: Adventicia, Muscular, y Mucosa.

Adventicia.- Está constituida por tejido conjuntivo por el interior del cual discurren los vasos y filetes nerviosos.

Muscular.- La capa muscular, notable por su desarrollo, representa la casi totalidad del espesor del conducto deferente. Está formada por distintas capas de fibras musculares lisas que se disponen de diferentes formas en el espacio. Esta capa es la responsable de la capacidad de respuesta del conducto deferente a los distintos estímulos.

Mucosa.- Se encuentra en la parte interna. Está formada por tejido epitelial cilíndrico desprovisto de glándulas.

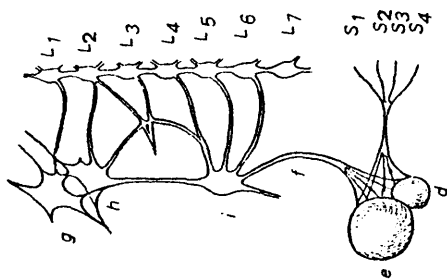
ANATOMIA DE LOS ORGANOS ACCESORIOS (fig. 4)

En la zona donde termina el conducto deferente, se encuentra la glándula ampollosa, ampolla o glándula del conducto deferente.

Las vesículas seminales de rata son más grandes y desarrolladas en su función que las de otros mamíferos inferiores. La convexidad es rizada como puede apreciarse en la fig. 4. En la concavidad de las vesículas seminales se encuentran otras glándulas importantes que son las "glándulas coaguladoras", como también puede apreciarse en la citada figura.

Por delante de todo lo descrito anteriormente se situa la -- próstata que presenta dos porciones perfectamente definidas, una - ventral y otra dorsal.

Las glándulas bulbo-uretrales se encuentran al lado de los - músculos isquio-cavernoso y bulbo-cavernoso, cerca de la base del pene.



INERVACION DE LOS ORGANOS GENITALES ACCESORIOS DE LA RATA.

d: Próstata. e: Vesículas urinarias. f: Nervio hipogástrico.
g: ganglio estrellado. h: Ganglio mesenterico superior.
i: Ganglio mesenterico inferior.

fig 4a

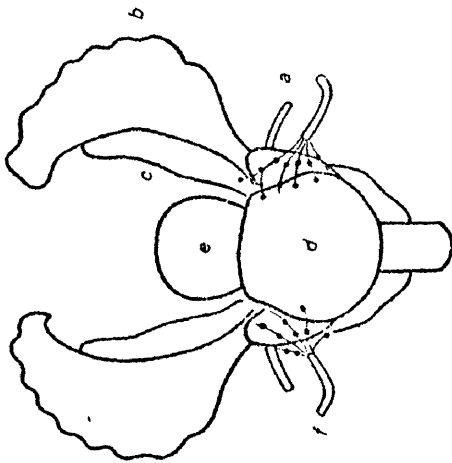


fig 4b

ANATOMIA DE LOS ORGANOS GENITALES ACCESORIOS DE LA RATA.

- a: Conducto deferente. b: Vesícula seminal.
- c: Glandula coaguladora. d: Próstata. e: Vesícula urinaria.
- f: nervio hipogástrico (Terminales adrenérgicas cortas).

NEUROTRANSMISION EN EL CONDUCTO DEFERENTE

En 1961 HUKOVIC obtiene contracciones longitudinales del conducto deferente estimulando el nervio hipogástrico, observando que esta respuesta contractil permanece durante varias horas. En esta misma preparación estudia también las acciones de distintos fármacos sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente. Pudo ver que la cocaína aumenta la respuesta de manera gradual y permanece este efecto después de lavada la preparación. También observó que la noradrenalina es capaz de producir directamente una respuesta contractil, pero si se administra en perfusión, lo que ocurre es un potenciamiento de la respuesta contractil del conducto deferente cuando se estimula el nervio hipogástrico; la reserpinización dos días antes de realizada la experiencia disminuye dicha respuesta contractil a la estimulación del nervio hipogástrico.

A la vista de estos resultados HUKOVIC concluye que la neurotrasmisión, al menos con la frecuencia de estimulación por él usada (80 Hz) es adrenérgica y está de acuerdo con el tipo de inervación simpática del conducto deferente.

En 1965 SJOSTRAND demuestra la existencia de células ganglionares en el tejido conectivo que envuelve al conducto deferente, hallazgos comprobados por FERRY en 1967 al demostrar la existencia de esas neuronas ganglionares en los dos últimos centímetros del nervio hipogástrico, quedando de esa forma plenamente demostrado que el nervio hipogástrico no solo lleva fibras postganglionares, con su neurona en el ganglio mesentérico superior, sino también fibras pregan-

glionares que tendrían su neurona en las proximidades del conducto deferente o en el interior del tejido conectivo que lo envuelve.

BIRMINGHAM y WILSON (1963) comparan las contracciones del conducto deferente por estimulación del nervio hipogástrico, según la técnica descrita por HUKOVIC, con las inducidas por estimulación eléctrica de campo.

Intentando ver el papel de los posibles receptores adrenérgicos, LARGE (1965) estudió los efectos del isoproterenol, adrenalina, fentolamina, pronetalol, y bicloroisoproterenol sobre las contracciones del conducto deferente de cobayo inducidas por estimulación del nervio hipogástrico. Concluyendo que tanto receptores alfa como beta se encuentran presentes en el conducto deferente de cobayo, y como la adrenalina en pequeñas dosis produce una disminución de las contracciones. Mientras que con dosis mayores se produce una acción potenciadora de dichas contracciones. El isoproterenol también posee estas acciones duales, dependiendo de si la contracción es pequeña, acción inhibidora o elevada, en cuyo caso la acción está potenciada.

BIRMINGHAM en 1970, observó las variaciones en la reactividad del conducto deferente por la denervación de un conducto dejando el otro como control. En los conductos deferentes denervados, el contenido de catecolaminas fue disminuyendo paulatinamente transcurridos 8 días de realizada la maniobra de denervación llegando a su disminución total. - Esto explicaría el incremento de la sensibilidad de los conductos deferentes denervados con respecto a los que perma-

necen en condiciones control.

Estimulando el conducto deferente de cobayo tratados con agentes bloqueantes ganglionares mediante la creación de un campo eléctrico, AMBACHE y ZAR en 1971 observan la presencia de dos componentes en la respuesta motora, sugiriendo esto la existencia de dos tipos de fibras motoras con diferente excitabilidad: unas, responden maximamente a pulsos de 0.1-0.4 msg, las otras lo hacen a 2 - msg.

También estos autores ponen de manifiesto que dosis de noradrenalina inhiben las respuestas contráctiles del conducto deferente evocadas por estimulación de campo, y como esta respuesta es diferente a la del isoproterenol en función de dos hechos: la acción de la noradrenalina no es bloqueada por el propanolol, y que la noradrenalina no disminuye las respuestas potenciadas previamente por - agentes muscarínicos.

En el mismo trabajo estudian las acciones de distintos agentes bloqueantes de los receptores alfa y beta. También describen acciones inhibitoras de la contractilidad - del deferente a la estimulación eléctrica de campo con tiramina, anfetaminatranilcipromina y prostaglandinas E_2 .

Todo esto les hace concluir que la neurotransmisión en el conducto deferente no es adrenérgica (no se abole - por reserpinización), no es colinérgica (no se abole por atropina ni se potencia por fármacos anticolinesterasicos) descartando también la posible participación como neurotrans - misor de la serotonina, GABA y del ATP.

AMBACHE y col.(1973) utilizando el mismo tipo de -
preparación, pero estimulando con trenes cortos de pulsos
(menos de los pulsos por tren) estudia la transmisión mo-
tora postganglionar. En estas situaciones experimentales
la tiramina produce una contracción de los conductos de-
ferentes de ratas normales pero no ejerce ninguna acción
en cobayos. Cuando este mismo fármaco es puesto en perfu-
sión continua produce una disminución de las contracciones
del conducto deferente de cobayo pero no ejerce ninguna --
acción cuando los animales eran reserpinizados previamente.

Los bloqueantes alfa son incapaces de impedir la res-
puesta contractil a la estimulación eléctrica de campo.

Todos estos resultados aportan datos complementarios
que permiten concluir que la transmisión motora postganglio-
nar no es adrenérgica para ninguna de estas especies y se -
puede asegurar una función inhibidora para la noradrenali-
na liberada endógenamente.

Las experiencias de Von EULER y HEDQUIST (1976) están
de acuerdo con las teorías sustentadas por AMBACHÉ y ante-
riormente descritas. ABEDANJO y AMBACHE (1978) han estudiado
las diferencias de las diferentes especies en cuanto a la
neurotransmisión del conducto deferente dividiendo éstas
según su comportamiento en tres grupos:

Grupo A (perro y caballo) la transmisión motora en
este grupo es predominantemente adrenérgica, parece ser que
ésta sería el tipo de neurotransmisión del conducto deferen-
te de la especie humana.

Grupo B (gato, rata y cobayo) predominantemente no adrenérgica, en estas especies el neurotransmisor responsable de la respuesta contractil sería una sustancia X - aun no identificada y la noradrenalina actuaría como inhibidor de la neurotransmisión.

Grupo C (ratón y conejo) este grupo sería intermedio entre los dos anteriores.

La respuesta contractil del conducto deferente en el estímulo eléctrico de campo ha sido recientemente analizada por McGRATH (1978) describiendo dos componentes, uno de ellos sería no-adrenérgico y correspondería al pico de la contracción y el otro componente adrenérgico que sería el responsable de la respuesta secundaria.

Después de la castración la respuesta secundaria desaparece, ya que la fase adrenérgica está ausente, apareciendo por otra parte contracciones espontáneas GILMORE y McGRATH (1977), la administración de propionato de testosterona 2 mg/día por vía subcutánea durante 10 días, esta reversión ya ha sido demostrada por otros autores para parámetros diferentes que incluyen contenido de catecolaminas y reactividad a distintos fármacos WAKADE y col. (1975) SJOSTRAND y SWEDIN (1976).

LORENZO y col. (1978) sugirieron que el neurotransmisor responsable de las contracciones del conducto deferente de cobaya y de rata por estimulación de campo, no es la Noradrenalina, al demostrar que en las preparaciones con suspensión de flujo, en las que los trenes de impulsos liberan ésta, acumulándose en la copa del baño, se producía

una disminución de la respuesta, que puede ser revertida al instaurar de nuevo el flujo desplazando de la copa la Noradrenalina liberada; por otra parte estos autores utilizando un bloqueante adrenérgico (la fenoxibenzamina) en concentraciones selectivas para receptores alfa pre- y post sinápticos, y utilizando preparaciones reserpinizadas demostraron una modulación presináptica en la liberación de la Noradrenalina LANGER y col. (1975) como neurotransmisor inhibidor. Asimismo LORENZO (1978) al estimular selectivamente receptores alfa-presinápticos con dosis bajas de clonidina (10^{-10} g/ml) se producía un aumento de la respuesta contractil, al disminuir la liberación de la Noradrenalina mientras que dosis más elevadas (10^{-9} g/ml) producen disminución de la respuesta presumiblemente por activación de alfa receptores postsinápticos inhibidores. Estos hechos apoyan la teoría ya postulada por AMBACHE y col. (1971) de que la Noradrenalina actúa como Neurotransmisor inhibidor en el conducto deferente de cobaya y rata.

JUSTIFICACION DEL TEMA

JUSTIFICACION DEL TEMA

Las acciones de la Oxitocina sobre estructuras orgánicas de las hembras de distintas especies animales son conocidas de manera bastante precisa, debido a la gran cantidad de investigaciones que se han llevado a cabo en este campo.

Sin embargo, es muy escasa y contradictoria la bibliografía referida a las acciones de la oxitocina sobre el organismo de los animales macho. Algunos autores MILOVANOF, BEREZNEV y GORAIHOV (1962) en el toro, KNIGHT y LINDSAY (1970) y VOLGMAYER (1975) en el carnero, y LEVIN (1968) en el cerdo, han podido demostrar que la administración de oxitocina produce un incremento del volumen de eyaculado y el número de espermatozoides en el mismo. SHARMA y HAYS (1976) - han demostrado que un derivado isoniazídico, methallibure, actuando como antagonista de la oxitocina, disminuye el contenido de espermatozoides en el eyaculado.

Sin embargo, KIHILSTRON y MELIN (1963), demostraron que la oxitocina disminuye el volumen de eyaculado y el número de espermatozoides en el conejo.

Por otra parte CROSS (1959) investigando la acción de la oxitocina sobre la motilidad espontánea del epidídimo de conejo no llegó a resultados concluyentes, mientras que BIELANSKY y EVI (1964) encontraron que esta hormona hipofisaria reducía la frecuencia de contracciones espontáneas en el epidídimo del mismo animal; sin embargo - KNIGHT (1972) demostró que la oxitocina incrementaba la frecuencia de contracciones espontáneas en el epidídimo de carnero.

Asimismo MELIN (1970) pudo demostrar la capacidad de la oxitocina para estimular la contracción del conducto deferente y epidídimo de conejo, demostrando HIB (1974) estas mismas acciones en el ra

tón; EWY y BIELANSKY (1962) demostraron a su vez, que la oxitocina incrementaba la velocidad de transporte de los espermatozoides en el conducto deferente de carnero.

Los hallazgos de estas investigaciones, en ocasiones contradictorias, y las discusiones suscitadas en torno a las posibles acciones de la oxitocina sobre los órganos sexuales del animal macho, han motivado la realización del presente trabajo encaminado a tratar de elucidar las posibles acciones de esta hormona sobre el conducto deferente de rata, estructura que constituye un reactivo biológico de contrastada fiabilidad para el estudio de parámetros fisiológicos y farmacológicos.

La investigación de las acciones de la oxitocina sobre el conducto deferente de rata ha sido orientado en las siguientes factas:

- A) Acciones de la oxitocina sobre la motilidad del conducto deferente de rata "in vitro" inducida por distintos agonistas y por estimulación eléctrica de campo.
- B) Relación de estas acciones con los factores que influyen directamente en la contracción de la fibra lisa del conducto deferente, en especial con las alteraciones del contenido de calcio extracelular y su posible interacción con la oxitocina.
- C) Modificación de la motilidad del conducto deferente de rata por oxitocina en diferentes situaciones experimentales que nos permitan demostrar la posible influencia de otras hormonas de la esfera sexual sobre dicha motilidad.

Sobre estas hipótesis de trabajo, intentamos elaborar una tesis.

7100

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

CONDUCTO DEFERENTE DE RATA "IN VITRO"

Para la realización de los diferentes experimentos que constituyen el presente trabajo hemos utilizado el conducto deferente aislado de ratas albinas, de raza Wistar o Sprague indistintamente, esta diferencia de raza, no influyó significativamente en la reactividad de las preparaciones, obteniéndose resultados homólogos en ambos casos; el peso de las ratas estaba comprendido entre 350 y - 420 g.

Los animales se sacrificaban con un golpe en la región cérvico-occipital y posterior sangrando por sección del paquete vascular del cuello, y una vez hecha la laparotomía mediante una incisión en forma de "V", y apartado el paquete intestinal se extrajeron los - testículos de las bolsas escrotales separando el conducto deferente mediante un corte en la parte epididimal y otro corte en su unión con la uretra.

Una vez separados de los testículos, los conductos deferentes se colocaban en una placa de PETRI conteniendo solución KREBS a temperatura ambiente. A continuación, se procedía a limpiarlos de adherencias separando la vaina de tejido conectivo que los envuelve; esta operación es de suma importancia ya que como describieron SJOS--TRAND (1965) y FERRY (1967), existen terminaciones ganglionares dentro del tejido conectivo del conducto deferente, y consideramos necesario anular la influencia de una mecanismo ganglionar en los resultados obtenidos.

Los conductos deferentes, una vez libres de adherencias, se anudaban por los dos extremos y se procedía a su montaje dentro del baño de órganos correspondiente. La porción uretral era colocada en

la base y la porción epididimal se conectaba al transductor o a la palanca inscriptora, según los casos. Esta disposición del conducto deferente, es la única correcta para poder obtener con fidelidad las contracciones del órgano.

Las técnicas utilizadas para provocar las respuestas del conducto deferente aislado fueron:

A) Conducto deferente aislado

B) Conducto deferente aislado con estimulación eléctrica de campo.

A) CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA.- Se colocó el conducto deferente en una copa de 10 ml de capacidad conteniendo solución de KREBS de composición mM: NaCl = 118; KCl = 4.75; CaCl = 2.5; - KH_2PO_4 = 1.19; NaHCO_3 = 25; MgSO_4 = 1.2; Glucosa = 5.5. Esta solución se mantenía a 37°C y se gaseaba con mezcla carbógena (95% O_2 y 5% CO_2).

Las contracciones se registraban en un polígrafo GRASS modelo 79 mediante un transductor de fuerza-desplazamiento GRASS FT03. Antes de comenzar cualquier pauta experimental las preparaciones eran equilibradas con un gramo de tensión, manteniéndose estabilizadas durante una hora.

Una vez estabilizada la preparación se procedía a la obtención de las curvas dosis-respuesta frente a los distintos agonistas. Cada concentración se dejaba actuar durante treinta segundos, lavando la preparación, una vez transcurrido este tiempo. Realizado el lavado, se esperaba de 8 a 10 minutos hasta la adición de la siguiente dosis. Se repetía la adición con dosis crecientes de los distintos agonistas utilizados hasta la obtención del efecto máximo (noradrenalina, dopamina, acetilcolina.)

Logrado el efecto máximo, se lavaba la preparación repetidas veces y se procedía a continuación a la obtención de la curva dosis-respuesta, esta vez en presencia de Oxitocina un minuto antes de cada adición.

Cada experimento se llevaba a cabo con un solo agonista.

En otro tipo de experimentos se observó el efecto de la Oxitocina sobre la respuesta del conducto deferente de rata inducida por CLK 85 mM. Entre cada dosis de CLK, se dejaban transcurrir 25 minutos; la Oxitocina se añadía 2 minutos antes de volver a repetir la dosis.

Con la misma pauta experimental antes descrita se obtuvieron curvas dosis-respuesta a Noradrenalina (NA) en situación control y en presencia de Verapamil (VRP). El VRP se adicionaba al baño dos minutos antes de añadir cada dosis de NA.

B) CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA ESTIMULACION ELECTRICA DE CAMPO.- El conducto deferente de rata fue sometido a estimulación eléctrica de campo siguiendo la técnica descrita por AMBACHE y ZAAR (1971).

El conducto deferente libre de adherencias y de la vaina conectiva que lo envuelve, se colocó en un baño de órganos dentro de una copa de 2 ml de capacidad que contenía en su interior dos electrodos verticales de Platino-Iridio, y a la cual llegaba solución de KREBS, de la composición mM antes descrita, por perfusión continua a un ritmo de 50 gotas/minuto, gaseada con mezcla carbógena (95% O₂ y 5% CO₂) a 35°C de temperatura.

Las contracciones se registraban mediante una palanca isotónica de inscripción tangencial en un quimógrafo BRAUN.

La estimulación se realizaba mediante trenes de pulsos (1-25) de voltaje supramáximo, duración 0.1 mgs, frecuencia 10 Hz, y a intervalos de 1 min.

Una vez estabilizada la preparación, se procedía variando el número de pulsos de 1 a 25, a la obtención de curvas dosis-respuesta control.

Obtenidos dos controles iguales, se procedía a la administración por perfusión continua de fármacos comenzando con una dosis baja que era aumentada gradualmente. En el periodo de perfusión de cada dosis eran obtenidas dos curvas dosis-respuesta.

En la otra serie de experimentos, la estimulación se realizaba con un número constante de pulsos por tren (10 p.p.s.) y los mismos parámetros de estimulación antes descritos, es decir: voltaje supramáximo, duración 0.1 mgs, frecuencia 10 Hz, a intervalos de 1 min. En estas condiciones de estimulación, se adicionaban los fármacos en perfusión continua, variando la concentración molar de Ca^{++} en el líquido de perfusión utilizando desde 5 mM-0.5 mM.

Otro tipo de experimentos se realizaron con VRP y D_{600} (en dosis crecientes) y en perfusión continua con Oxitocina (en dosis fija).

CASTRACION

Después de haber sido anestesiados con eter, los animales fueron castrados bilateralmente por vía transescrotal.+

ADMINISTRACION DE FARMACOS

- 1.- Propionato de testosterona disuelto en aceite de oliva - por vía subcutánea a la dosis de 0.5 mg por Kg de peso.

- 2.- Benzoato de estradiol disuelto en aceite de oliva por vía subcutánea a la dosis de 1.7 ug por Kg de peso.
- 3.- Melatonina disuelta en 0.5 cc. de alcohol y 1.5 cc de H₂O destilada, por vía subcutánea a la dosis de 0.5 mg por Kg de peso.
- 4.- Acetato de Cyproterona disuelto en benzoato de bencilo por vía subcutánea y a la dosis de 50 mg por Kg. de peso.

GRUPOS DE ANIMALES UTILIZADOS

Los animales adultos se dividieron en los siguientes grupos - (ver gráfica adjunta nº 5) en orden a la utilización del conducto deferente:

- 1.- Animales castrados: Un grupo de animales fue sacrificado a los 15 días de realizada la castración.

Otro grupo de animales se sacrificó a los 60 días de - llevada a cabo la castración.

- 2.- Animales castrados + testosterona: A este grupo y desde el mismo momento de la castración diaria, se les administraba propionato de testosterona por vía subcutánea durante 15 - días, al término de los cuales eran sacrificados.

En otro grupo y transcurridos 53 días de realizada la castración, se administró diariamente propionato de testosterona por vía subcutánea, a la dosis de 0.5 mg. por Kg. hasta el día 60 en que eran sacrificados.

- 3.- Animales castrados + melatonina: Desde el momento de la - castración se les administraba diariamente y por vía subcutánea melatonina hasta transcurridos 30 días, momento en que eran sacrificados.

- 4.- Animales castrados + benzoato de estradiol: Desde el momento de la castración se les administraba diariamente y por vía subcutánea benzoato de estradiol durante 15 días, transcurridos los cuales se procedía a sacrificarlos.
- 5.- Animales inyectados con propionato de testosterona: Este grupo de animales era sacrificado transcurridos 15 días desde el comienzo de la administración diaria de la testosterona por vía subcutánea.
- 6.- Animales inyectados con melatonina: Sacrificados a los 30 días desde el inicio de la administración de melatonina por vía subcutánea diariamente.
- 7.- Animales inyectados con benzoato de estradiol: Sacrificados a los 15 días de la administración por vía subcutánea de benzoato de estradiol diariamente.
- 8.- Animales inyectados con acetato de Cyproterona: Sacrificados a los 30 días del inicio de la administración por vía subcutánea de acetato de Cyproterona, diariamente.

A los diferentes grupos de animales antes reseñados se les extraía los conductos deferentes una vez sacrificados y se procedía posteriormente a su montaje, según la técnica citada con anterioridad para la estimulación eléctrica de campo.

PESO DE ORGANOS

Para comprobar las variaciones en el peso a medida que transcurrían los días a partir del momento de la castración y/o del inicio del tratamiento con los distintos fármacos utilizados, una vez sacrificados los animales, se procedía a pesar en conjunto, así como por separado: los conductos deferentes, vesículas seminales, cápsulas su-

prerenales, y, próstata.

FARMACOS UTILIZADOS

Los fármacos utilizados en nuestros experimentos han sido los siguientes:

- Acetato de Cyproterona (Schering)
- Benzoato de estradiol (Schering)
- Bitartrato de noradrenalina (Winthrop)
- Clorhidrato de acetil-colina (Sigma)
- Clorhidrato de Dopamina (Sigma)
- Cloruro Potásico (Merck)
- Melatonina (Sigma)
- Metoxi-Verapamil (D₆₀₀) (Knoll)
- Oxitocina (Syntocinon) (Sandoz)
- Propionato de testosterona (Schering)
- Verapamil (Knoll)

ESTADISTICA

Los resultados obtenidos fueron valorados estadísticamente de la forma siguiente: se agrupan los datos experimentales según los distintos grupos y los diferentes parámetros medidos. De cada experimento se calculó la media, la desviación standar y el error standar de la media, según las siguientes fórmulas:

MEDIA $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n f_i X_i}{N}$

DESVIACION STANDARD $s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n f_i (X_i - \bar{x})^2}{N}}$

ERROR STANDAR DE LA MEDIA E.S.M. = $\frac{s}{\sqrt{n}}$

La significación estadística de los distintos grupos se efectuó utilizando el test de Student. De esta forma calculamos el valor "t" según la fórmula siguiente:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$$

Donde: $\sqrt{\frac{N_1 s_1^2 + N_2 s_2^2}{N_1 + N_2 - 2}}$

Siendo el número de grados de libertad igual a: $N_1 + N_2 - 2$.

Este valor "t" observado en la tabla de distribución de Student con $N_1 + N_2 - 2$ grados de libertad nos da el valor "p" de significación. Considerábamos significativa la diferencia para valores $p \leq 0.05$.

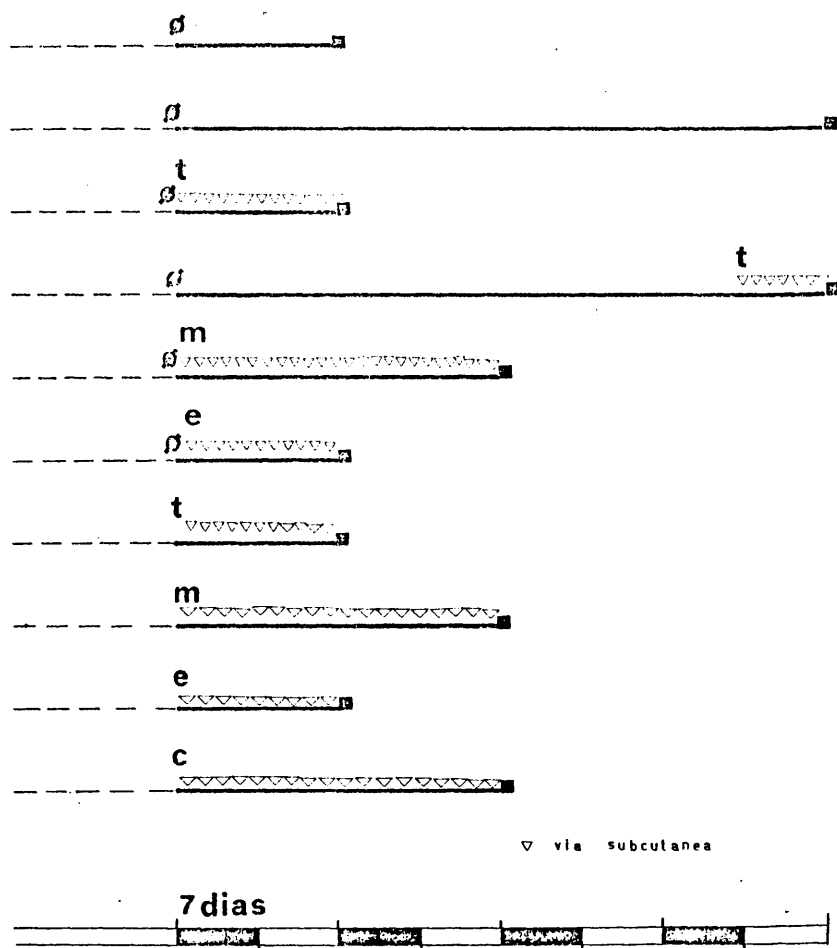


fig 5

66 51

RESULTADOS

RESULTADOS

EFFECTOS DE LA OXITOCINA SOBRE LAS CONTRACCIONES DEL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA INDUCIDAS POR DISTINTOS AGONISTAS

La oxitocina (50-200 mU/ml) produce una disminución de la respuesta del conducto deferente de rata usando como agonista la Noradrenalina (1×10^{-7} - 1×10^{-5} M), como puede apreciarse en la figura 6 - esta disminución es dosis dependiente y máxima con 200 mU/ml.

Cuando el agonista usado era la Dopamina (2.5×10^{-6} M - 1×10^{-4} M) se observan resultados similares a los anteriormente citados, es decir una disminución de la contractilidad del conducto deferente dosis dependiente. Resultados que pueden observarse en la figura 7.

En la figura 8 pueden verse los efectos de la Oxitocina (25-100 mU/ml) sobre las contracciones del conducto deferente de rata inducidas con Acetilcolina (1×10^{-5} M - 2×10^{-4} M).

En otra serie de experimentos se usó como agonista el ClK 85 mM y se pudo observar una disminución de la amplitud de las contracciones con respecto a las contracciones control del conducto deferente de rata cuando se repetían en presencia de Oxitocina (50-400 mU/ml), disminución que puede apreciarse en la figura 9.

EFFECTOS DE LA OXITOCINA SOBRE LAS CONTRACCIONES DEL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA INDUCIDAS CON ESTIMULACION ELECTRICA DE CAMPO

La Oxitocina (50-200 mU/ml) produce una disminución de las contracciones del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) y variando el número de pulsos por tren desde 1 hasta 20 como puede observarse en la figura 10. La acción de la Oxitocina 200 mU/ml era revertida con el lavado de la preparación obteniéndose valores iguales a los controles, un experimento en que se ve es-

ta acción en la figura 11.

EFFECTOS DE LA OXITOCINA (200 mU/ml) SOBRE LAS CONTRACCIONES DEL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA INDUCIDAS POR ESTIMULACION DE CAMPO Y SU RELACION CON LAS CONCENTRACIONES DE CALCIO EXTRACELULAR.

Las acciones inhibitoras de la oxitocina en el conducto deferente de rata se potencian cuando disminuimos la concentración del calcio del líquido de perfusión desde 5 mM hasta 0.5 mM figura 12. En estos experimentos se midió la acción inhibitora de la Oxitocina a los diez minutos de iniciada la perfusión y la recuperación de la respuesta a los 10 minutos de suspendido el flujo con Oxitocina, los resultados nos demuestran que existe una relación lineal entre la acción inhibitora de la Oxitocina sobre la contractilidad del conducto deferente de rata y las concentraciones del calcio del líquido de perfusión, así como entre la recuperación de la respuesta y el calcio extracelular; estos resultados se representan en la figura 13.

ACCIONES DEL VERAPAMIL Y METOXIVERAPAMIL (500) SOBRE LAS CONTRACCIONES DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA.

El verapamil (1×10^{-5} M - 2×10^{-4} M) produce una disminución de las contracciones del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 10 msg) variando el número de pulsos desde 1 hasta 20, las figuras 14-18 nos muestran un experimento tipo, los resultados se pueden observar en la figura 16. Similares experiencias se realizaron con el derivado metoxilico del Verapamil el D₆₀₀, figuras 17 y 18. El verapamil 1×10^{-6} M y 2×10^{-6} M, como puede apreciarse en la figura 19 producía una disminución de las contracciones del conducto deferente de rata usando como agonista la Noradrenalina (1×10^{-7} M -

$1 \times 10^{-5} \text{M}$).

SINERGISMO DE LA OXITOCINA VERAPAMIL Y D₆₀₀ SOBRE LA REACTIVIDAD DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA INDUCIDA POR ESTIMULACION ELECTRICA DE CAMPO.

El Verapamil (1×10^{-5} - 2×10^{-4}) y el D₆₀₀ (1×10^{-6} M - 1×10^{-4} M) potencian las acciones inhibitoras de 200 mU/ml de Oxitocina a los diez minutos de iniciado el flujo simultáneo, así como también se veía afectada la recuperación de la contractilidad a los diez minutos de suspendido el flujo, figura 20 y 24. Los resultados una vez tabulados se pueden observar en la figura 22 y 23.

EFFECTOS DE LA CASTRACION SOBRE LA REACTIVIDAD DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA.

La castración produce una serie de acciones importantes sobre las contracciones del conducto deferente de rata con estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo duración 1 msg) variando el número de pulsos por tren desde 1 hasta 20, estas acciones son distintas según el tiempo transcurrido desde la castración hasta el momento de la realización del experimento. Cuando ese tiempo es de 15 días se observan aparición de contracciones espontáneas, aumento de las contracciones obtenidas con un número bajo de pulsos y un aumento no significativo con respecto a las respuestas control.

Cuando el tiempo transcurrido es de 60 días la disminución de las contracciones es significativa, llegando prácticamente a la abolición de dichas contracciones, manteniendo la aparición de las espontáneas.

En una serie posterior se estudió la modificación de estas ac

ciones por Tropionato de Testosterona 0.5 mg/kg, observándose que en el caso de las ratas castradas a los 15 días la reactividad del conducto deferente aumentaba significativamente con respecto a los valores control, y cuando el tiempo transcurrido era de 60 días, re--vertía la casi completa abolición de la reactividad de dicho conducto deferente, figura 24.

En la figura 25 pueden verse representadas las curvas dosis - respuestas variando el número de pulsos por tren en las distintas situaciones experimentales antes descritas.

EFFECTOS DE LA CASTRACION SOBRE LAS ACCIONES INHIBIDORAS DE LA OXITOCINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA.

Para intentar ver si la acción inhibidora de la Oxitocina - (50-200 mU/ml) sobre las contracciones del conducto deferente de - rata inducidas por estimulación eléctrica de campo, era modificada de alguna forma por la castración, se realizaron una serie de experiencias cuya figura 26 y cuya tabulación constituye la figura 27, en esta representación gráfica podemos observar como la curva, es desplazada hacia abajo y hacia la derecha por las dosis sucesivas de Oxitocina, de forma análoga a lo encontrado cuando se realiza en situaciones control.

En otra serie de experimentos fig. 30 se observó la reactividad del conducto deferente en animales castrados y con administración de propionato de testosterona 0.5 g/kg por vía subcutánea durante 15 días.

La tabulación de los efectos inhibitorios que ejerce la oxitocina sobre el conducto deferente en las situaciones experimentales antes descritas se pueden ver en la fig. 31.

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE PROPIONATO DE TESTOSTERONA SOBRE LA REACTIVIDAD Y SOBRE LAS ACCIONES INHIBIDORAS DE LA OXITOCINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA.

El propionato de Testosterona administrado diariamente a la dosis de 0.5 mg/kg por vía subcutánea durante 15 días, produce un aumento significativo ($p < 0.05$) de las contracciones del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo y duración 1 ms) variando el número de pulsos desde 1 hasta 20, figura 28.

En las situaciones experimentales antes descritas la Oxitocina (50-200 mU/ml) produce una disminución de las contracciones del conducto deferente cuya representación gráfica constituye la figura 29. Esta disminución de la motilidad es similar a la obtenida en situaciones control.

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE BENZOATO DE ESTRADIOL SOBRE LA REACTIVIDAD Y SOBRE LAS ACCIONES INHIBIDORAS DE LA OXITOCINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA. CONTROL Y RATAS CASTRADAS.

La administración durante 15 días por vía subcutánea de Benzoato de Estradiol 1.7 ug/kg en ratas y en ratas castradas, administrado desde el momento de la castración, producía la aparición de contracciones espontáneas.

El benzoato de estradiol administrado en ratas, no produce un aumento significativo de las contracciones del conducto deferente a la estimulación eléctrica de campo, figuras 30-32. Sin embargo cuando se administraba a ratas castradas, se obtenía una disminución significativa ($p < 0.05$) de dichas contracciones, disminución que es atribuible más a la castración que a la administración de Benzoato de Estradiol, figura 34.

En ambas situaciones experimentales la Oxitocina (50-200 mU/ml) producía una inhibición dosis dependiente de las contracciones del conducto deferente al igual que ocurre en ratas control. Estos resultados graficados se representan en las figuras 33 y 35.

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE MELATONINA SOBRE LA REACTIVIDAD Y SOBRE LAS ACCIONES INHIBIDORAS DE LA OXITOCINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA. CONTROL Y RATAS CASTRADAS.

La administración durante 30 días por vía subcutánea de Melatonina 0.5 mg/kg en ratas normales y en ratas castradas administrada desde el momento de la castración producía modificaciones en la reactividad del conducto deferente de rata; estas modificaciones -- eran de distinto signo, pues mientras que en las ratas normales la administración de Melatonina aumentaba significativamente las contracciones del conducto deferente de rata a la estimulación eléctrica de campo, con respecto a los resultados obtenidos en las ratas a las que no se sometió a ninguna maniobra experimental figura 36, en las ratas a las que se les administraba Melatonina desde el momento de la castración durante 30 días se producía una disminución de amplitud de las contracciones del conducto deferente, figura 38. Esta disminución es más atribuible a la castración que a la Melatonina.

En ambas situaciones experimentales la Oxitocina (50-200 mU/ml) producía una inhibición dosis dependiente de las contracciones del conducto deferente a la estimulación eléctrica de campo al igual que ocurre en ratas control. Estos resultados graficados se representan en las figuras 37 y 39.

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE ACETATO DE CYPROTERONA SOBRE LA REACTIVIDAD Y SOBRE LAS ACCIONES INHIBIDORAS DE LA OXITOCINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA.

El acetato de Cyproterona administrado por vía subcutánea 50 mg por Kg.

La administración de 50 mg/kg por vía subcutánea durante 30 días, no ejerce cambios significativos sobre las contracciones del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 mg) variando el número de pulsos desde 1 hasta 15 fig. 40.

Asimismo las acciones inhibidoras de la Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre la misma preparación, tampoco son modificadas de forma significativa, como puede observarse en la figura 41.

ACCION DE LA OXITOCINA (200 mU/ml) SOBRE LAS CONTRACCIONES ESPONTANEAS

En la realización de las distintas series experimentales, pudimos observar la aparición de contracciones espontáneas y como estas contracciones eran abolidas por 200 mU/ml de Oxitocina.

Como ya hemos descrito aparecieron contracciones espontáneas en los animales castrados cualquiera que fuera el tiempo de castración, solo existen diferencias en la amplitud de las contracciones pero no en la frecuencia de las mismas.

También aparecieron contracciones espontáneas en los conductos deferentes de las ratas a las que se les inyectó 1.7 ug/Kg por vía subcutánea de Benzoato de estradiol y también a las que se castraron y se les administró por la misma vía y en las mismas condiciones el Benzoato de estradiol.

En todas las situaciones experimentables la supresión de las contracciones espontáneas fue revertida después de suspender el flujo de Oxitocina 200 MU/ml como puede observarse en la figura 42.

EFFECTOS DE LA OXITOCINA 200 mU/ml Y SU RELACION CON LAS CONCENTRACIONES DE CALCIO EXTRACELULAR EN DIFERENTES SITUACIONES EXPERIMENTALES.

En otra serie de experimentos se estudió la relación de la inhibición de las contracciones del conducto deferente de rata inducidas con estimulación eléctrica de campo, con las concentraciones del calcio extracelular, en las diferentes condiciones experimentales.

Se midió la inhibición de las contracciones a los 10 minutos de iniciado el flujo con Oxitocina 200 mU/ml, y la recuperación de la respuesta contractil del conducto deferente a los 10 minutos de suspendido el flujo con Oxitocina en todas las situaciones experimentales es decir: animales castrados y sacrificados a los 15 días, animales a los que se les administró por vía subcutánea 0.5 mg de Propionato de testosterona durante 15 días, animales castrados y con administración simultánea desde el momento de la castración de 0.5 mg/Kg por vía subcutánea, administración de acetato de cyproterona 50 mg/Kg durante 30 días por vía subcutánea. Estos resultados vienen reflejados en la figura 44.

Ratas con administración diaria de Melatonina a la dosis de 0.5 mg/Kg por vía subcutánea, animales castrados a los que se les administraba desde el mismo momento de la castración y durante 30 días 0.5 mg/Kg de Melatonina por vía subcutánea. Animales con administración diaria durante 15 días de Benzoato de estradiol a la dosis de 1.7 ug (Kg por vía subcutánea). Animales castrados a los que

se les administraba Benzoato de estradiol a la dosis de 1.7 ug/Kg de peso por vía subcutánea durante 15 días. Estos resultados graficados constituyen la figura 45

MODIFICACIONES DE LA REACTIVIDAD DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA EN DIFERENTES SITUACIONES EXPERIMENTALES.

En la figura 46 se representan la contractilidad del conducto deferente de rata inducida por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1msg) variando el número de pulsos desde 1 hasta 20, pudiéndose observar los siguientes resultados:

La administración de propionato de testosterona a la dosis de 0.5 mg/Kg por vía subcutánea durante 15 días, produce un aumento significativo de las contracciones del conducto deferente de rata.

Los conductos deferentes de las ratas castradas y sacrificadas a los 15 días no presentan modificaciones sobre los controles en lo que respecta a su contractilidad no ocurre así cuando el tiempo de castración es de 60 días puesto que en esta situación experimental existe una casi total reducción de las contracciones.

La administración de propionato de testosterona por vía subcutánea a la dosis de 0.5 mg/Kg durante 15 días en ratas castradas aumenta las contracciones del deferente de dichos animales con respecto a la situación control de manera significativa.

La administración de benzoato de estradiol 1.7 ug/Kg por vía subcutánea prácticamente no modifica la situación control, aunque sí la administración de la misma concentración y por la misma vía y durante los mismos días se hace en ratas castradas desde el momento de la castración existe una disminución significativa de las respues

tas contráctiles del conducto deferente.

La Melatonina a la dosis de 0.5 mg/kg por vía subcutánea durante 30 días produce un aumento significativo de las contracciones del conducto deferente con respecto a la situación control. Por contra cuando la administración de Melatonina se realizaba por la misma vía y durante el mismo periodo de tiempo pero esta vez en animales castrados existe una disminución significativa de dicha contractilidad.

El acetato de cyproterona a la dosis de 50 mg/kg durante 30 días no produce ningún tipo de modificación en la motilidad del - conducto deferente inducida por estimulación eléctrica de campo.

MODIFICACION DEL PESO DE LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS POR LA CASTRACION

En la figura 47 se representan las variaciones del peso del - animal, vesículas seminales, próstata, conductos deferentes y cápsu las adrenales en relación con los distintos días transcurridos desde el momento de la castración hasta la muerte.

Como puede observarse existe una disminución significativa - del peso corporal así como el de las diferentes estructuras excepción hecha del peso de las cápsulas adrenales que no experimenta modificación alguna.

VARIACION DEL PESO DE LAS DISTINTAS ESTRUCTURAS POR LAS DIFERENTES SITUACIONES EXPERIMENTALES.

En la representación de la figura 48 pueden apreciarse las distintas variaciones del peso corporal de la próstata, de las vesículas seminales, del conducto deferente y de las cápsulas adrenales en las situaciones control, animales castrados y sacrificados a los 15 días de realizada la castración, animales a los que se les adminis-

tró benzoato de estradiol por vía subcutánea durante 15 días y a la dosis de 1.7 ug/Kg, animales castrados y con administración diaria de benzoato de estradiol por la misma vía y a la misma concentración anterior, animales a los que se les inyectaba por vía subcutánea durante 30 días Melatonina a la dosis de 0.5 mg/Kg, animales castrados y con administración de Melatonina 0.5 mg/Kg durante 30 días por vía subcutánea y animales a los que se les administraba diariamente por vía subcutánea Acetato de cyproterona 50 mg/Kg durante 30 días.

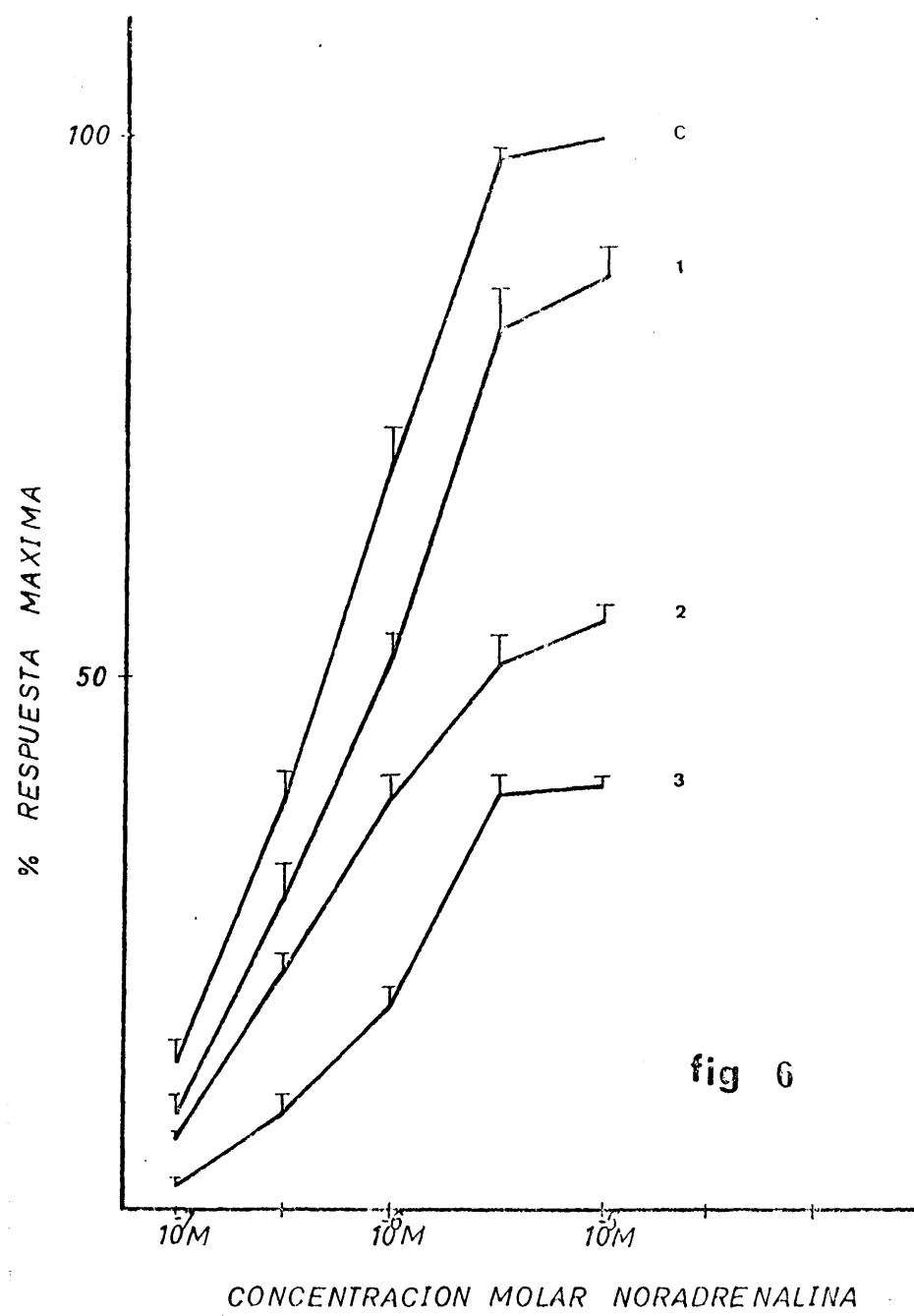


fig 6

Figura 6.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por Noradrenalina en el conducto deferente aislado de rata. En ordenadas % de la respuesta máxima; en abscisas concentración molar - de Noradrenalina, escala log. Cada punto es la media de 8 experimentos; las barras verticales representan el ESM. (C) Control, tras la administración de Oxitocina, 50 mU/ml (1) 100 mU/ml (2) 200 mU/ml (3).

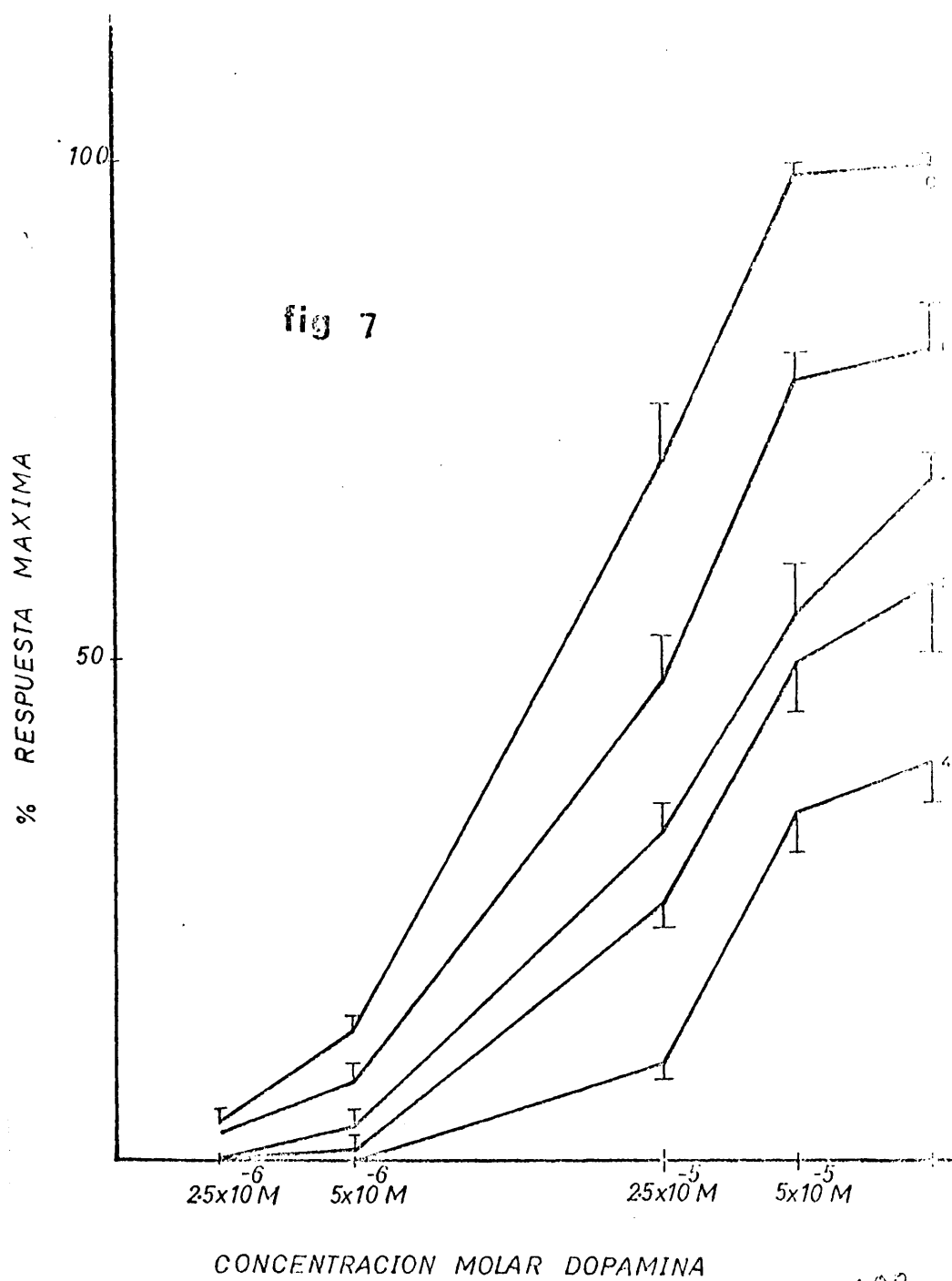


Figura 7.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por Dopamina en el conducto deferente aislado de rata. En ordenadas % de la respuesta máxima; en abcisas concentración molar de Dopamina, escala log. Cada punto es la media de 8 experimentos; las barras verticales representan el E. S.M. (C) Control, después de la administración de Oxitocina, 50 mU/ml. (1) 100 mU/ml (2) 200 mU/ml (3).

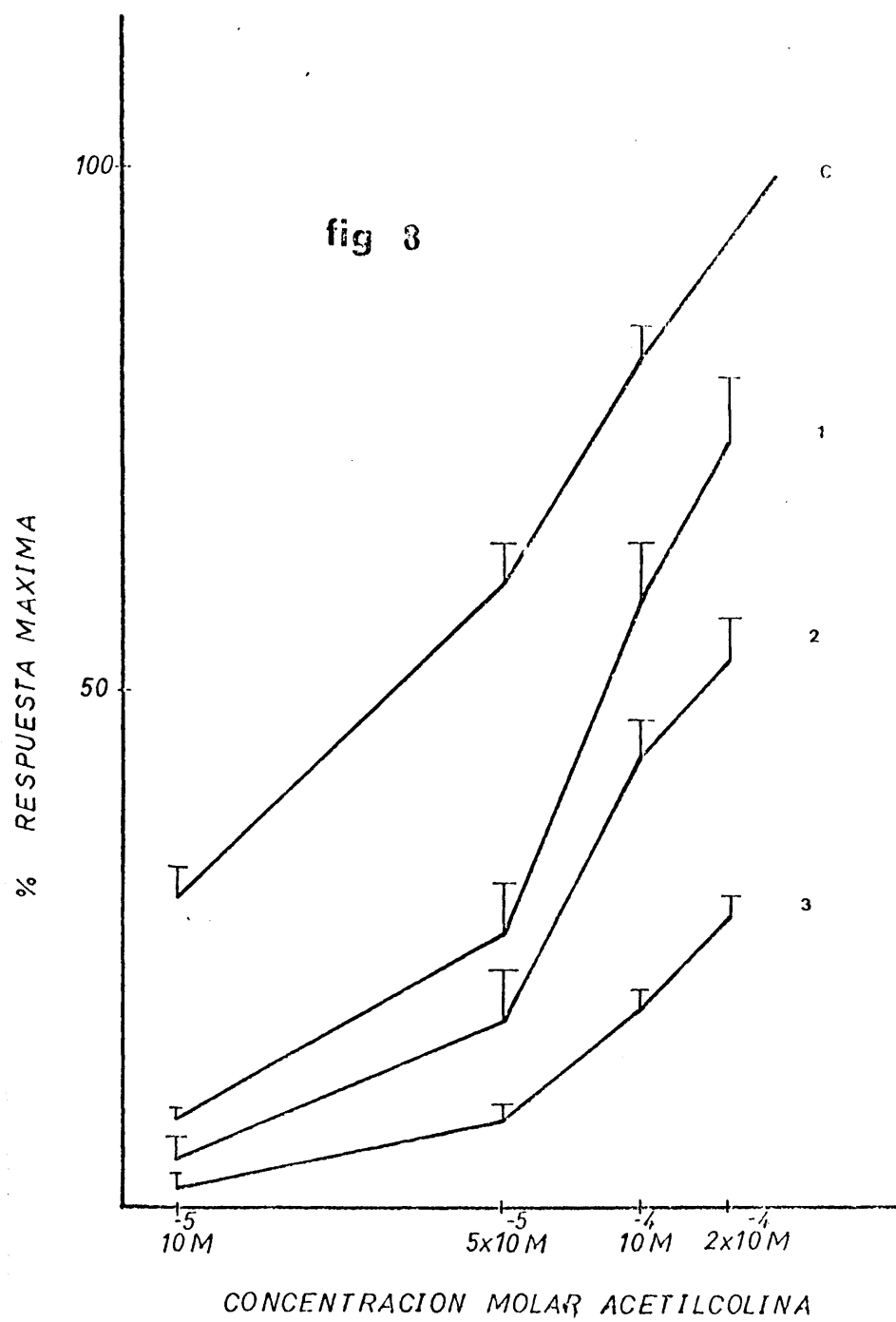


Figura 8.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por Acetilcolina en el conducto deferente de rata. En ordenadas % de la respuesta máxima; en abscisas concentración molar de Acetilcolina, escala log. Cada punto es la media de 8 experimentos; las barras verticales representan el E.S.M. (C) Control, tras la administración de Oxitocina, 25 mU/ml. (1) 50mU/ml. (2) 100 mU/ml (3).

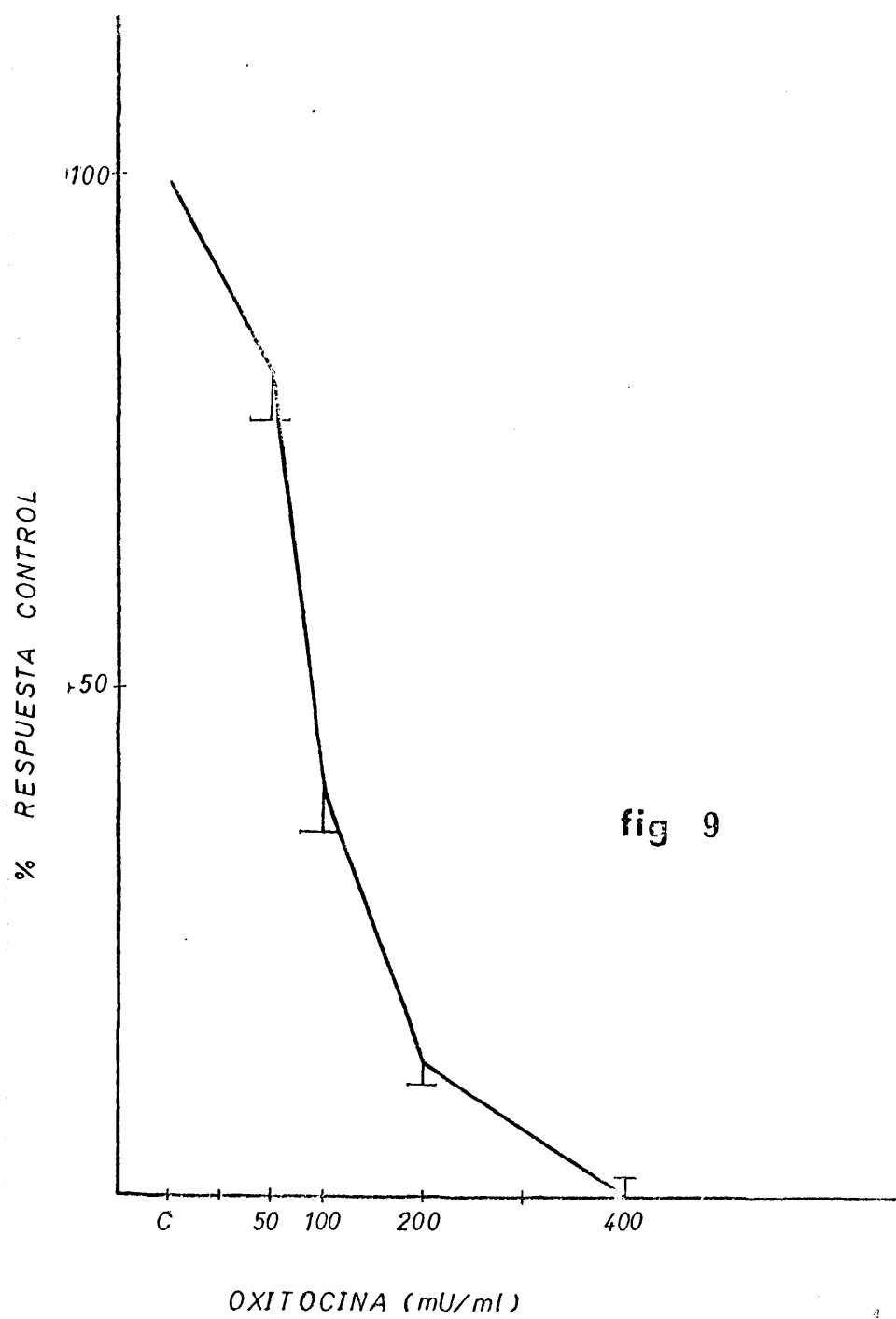


fig 9

Figura 9.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por 85 mM de CLK en el conducto deferente de rata. En ordenadas % de la respuesta - control, en abscidas concentración de Oxitocina mU/ml. N = 8; las barras verticales representan el E.S.M.

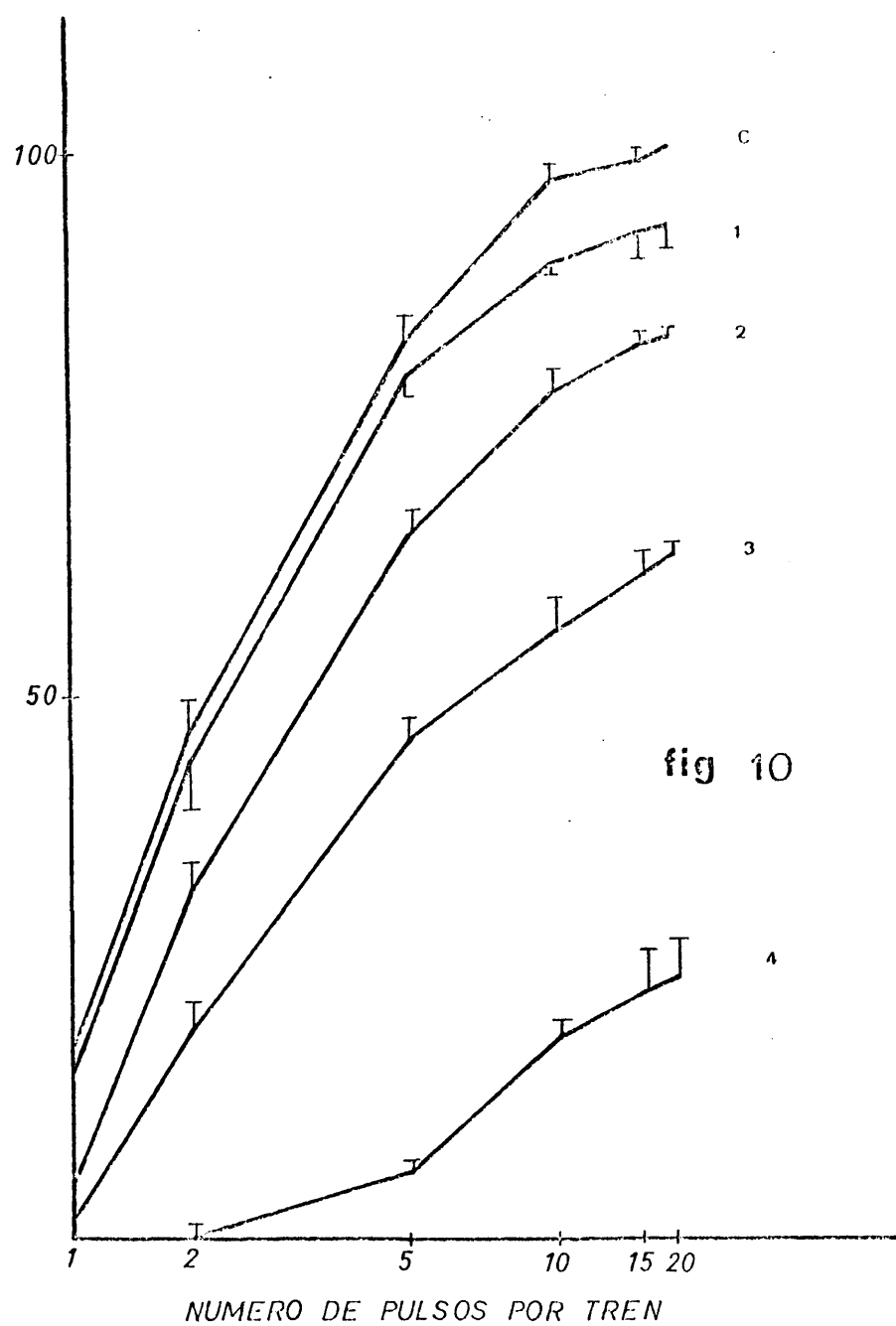


fig 10

Figura 10.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg). En ordenadas % de la respuesta máxima; en abscisas número de pulsos por tren, escala log. N = 16. Las barras verticales representan el E.S.M (C) Control, después de la administración de Oxitocina, 50 mU/ml. (1) 100 mU/ml (2) 200 mU/ml. (3) y 1000 mU/ml (4).

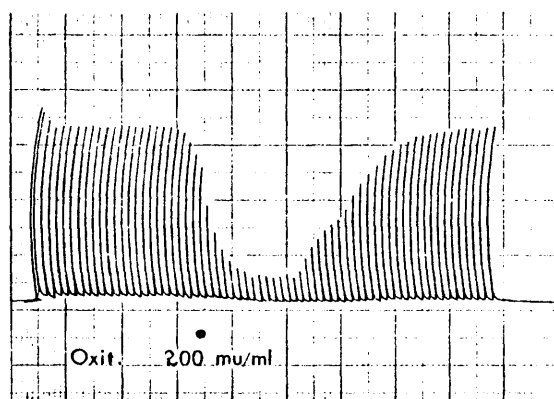


fig 11

Figura 11.- Efecto de la Oxitocina 200 mU/ml sobre las respuestas contractiles del conducto deferente de rata obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) 5 p.p.s. y a intervalos de 1 - minuto.

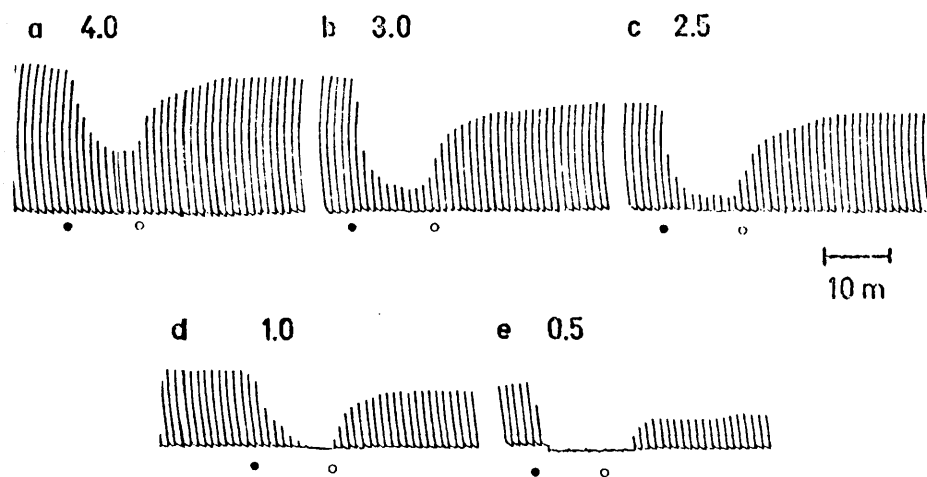


FIG. 12

Figura 12.- Efecto de la Oxitocina, 200 mU/ml, sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, - duración 1 msg) 5 p.p.s. y a intervalos de 1 - min. En la parte superior el número de cada panel indica la concentración mM de Calcio en el líquido de perfusión.



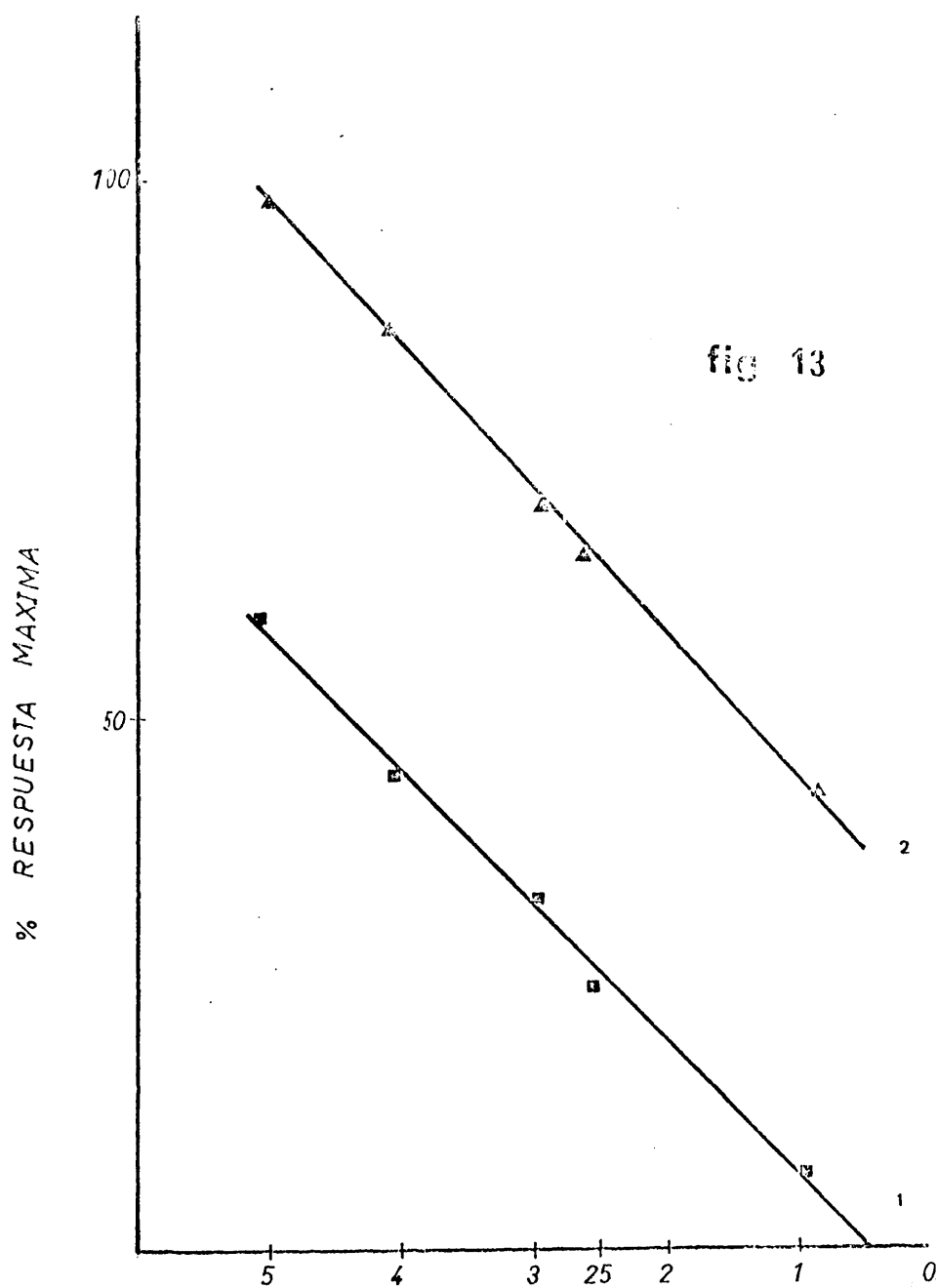


Figura 13.- Representación gráfica de la relación lineal existente entre la inhibición de la respuesta del conducto deferente de rata por 200 mU/ml de Oxitocina y la concentración M de calcio del líquido de perfusión.

Ordenadas % respuesta máxima, en abscisas concentración mM de calcio. (1) Inhibición de la contractilidad del conducto deferente a los 10 min. de iniciado el flujo con Oxitocina. (2). Recuperación de la contractilidad del conducto deferente de rata a los 10 min. de suspendido el flujo con oxitocina 200 mU/ml. N=6. No se representaron los E.S.M. por aproximación a la recta, pero para ningún punto fueron superiores al 5% de la media.

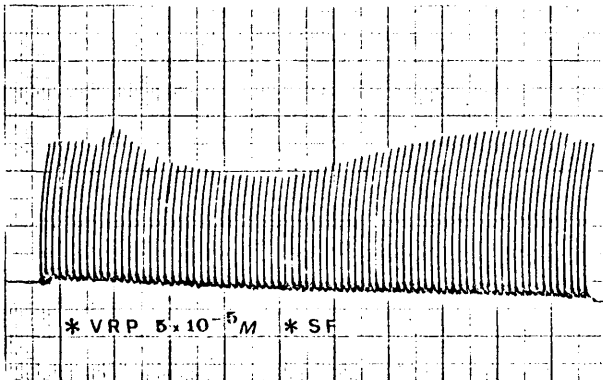


fig 14

Figura 14.- Efecto del Verapamil $5 \times 10^{-5} M$, sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg). 5 p.p.s. y a intervalos de 1 min. SF suspensión del flujo.

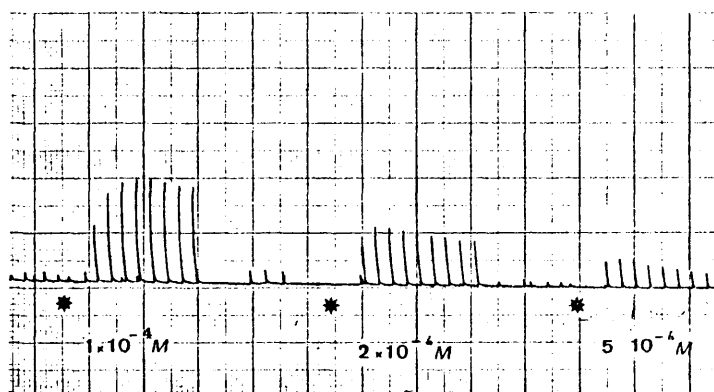
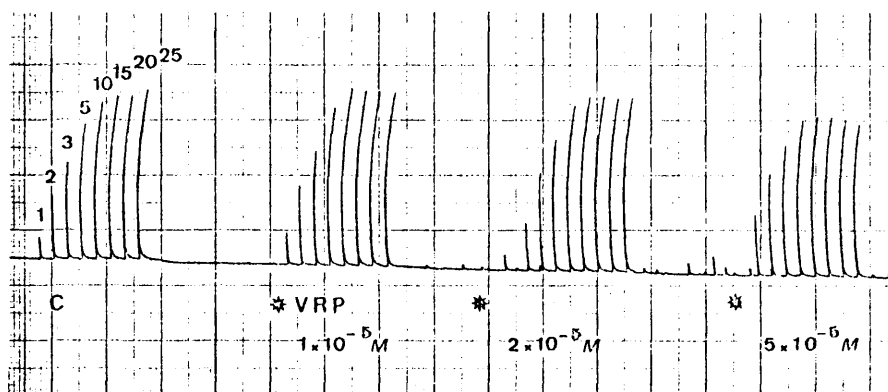


fig 15

Figura 15.- Efecto de dosis sucesivas de Verapamil (1×10^{-5} - 5×10^{-4} M) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) variando el número de pulsos por tren desde 1 a 25. C = control.

fig 16

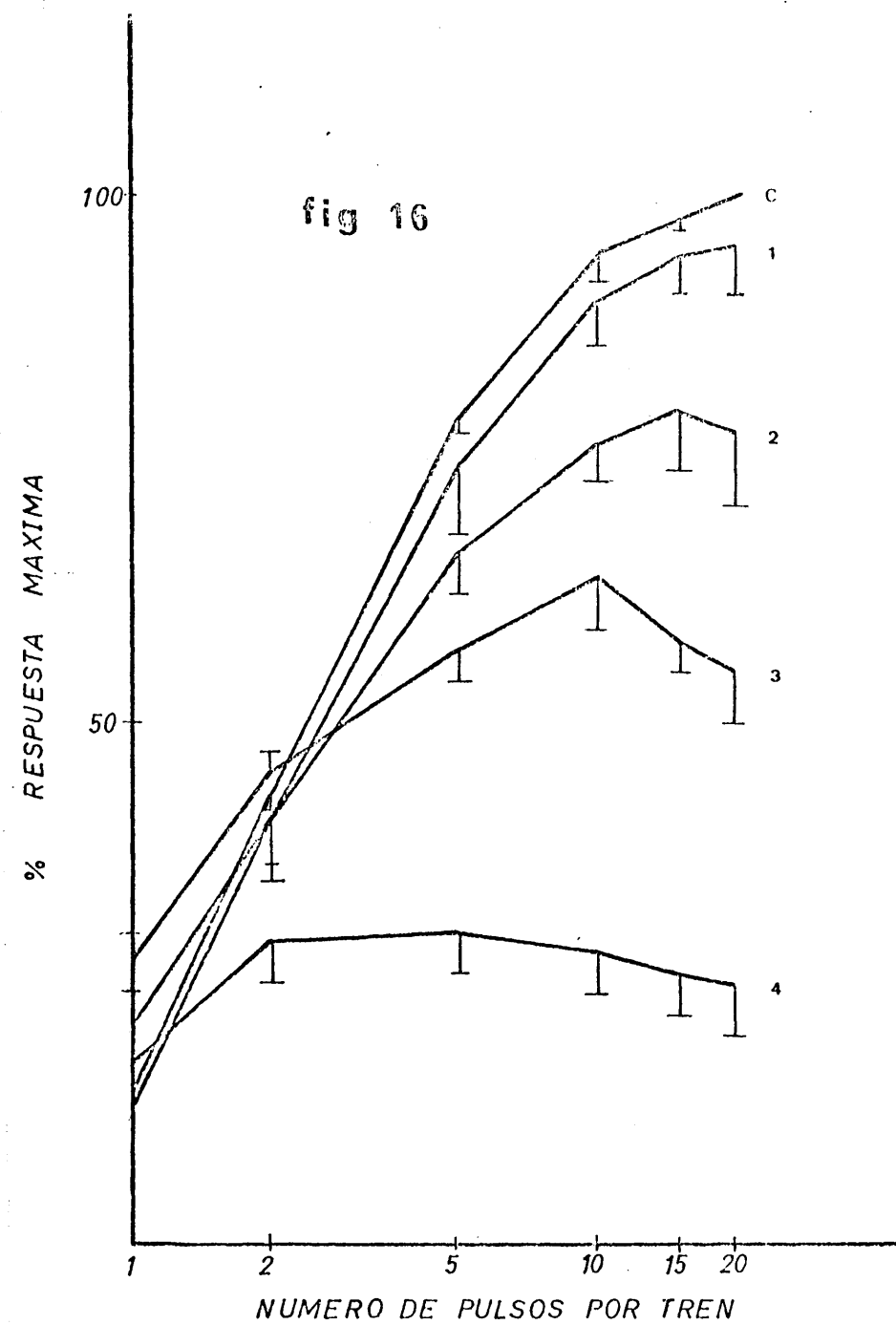


Figura 16.- Efecto del Verapamil sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg). En ordenadas % de la respuesta máxima - control. En abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=16. Las barras verticales representan el E.S.M (C) Control, después de la administración de Verapamil $1 \times 10^{-5}M$ (1), $5 \times 10^{-5}M$ (2), $1 \times 10^{-4}M$, (3) y $2 \times 10^{-4}M$ (4).

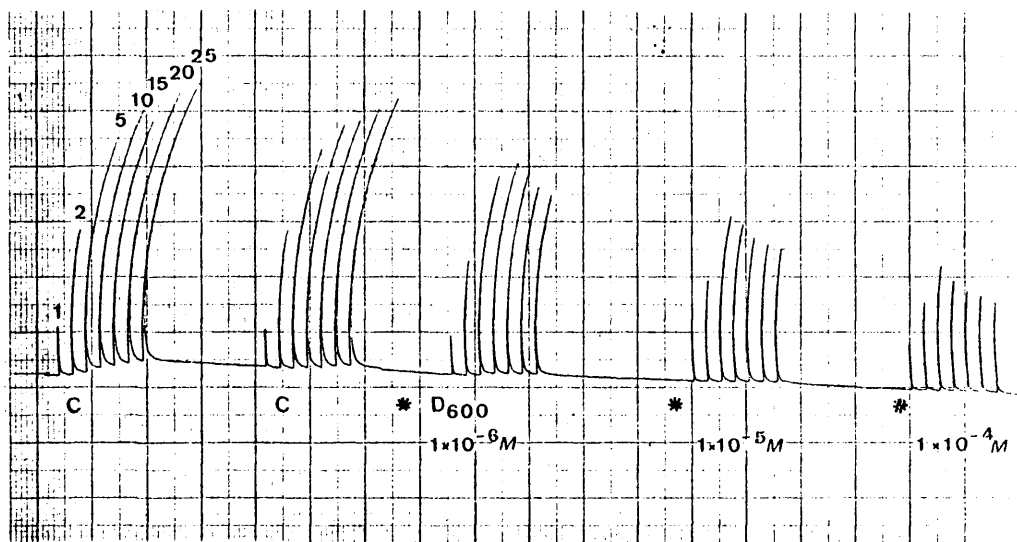


fig 17

Figura 17.- Efecto de dosis sucesivas de D_{600} ($1 \times 10^{-6} M$ - $1 \times 10^{-4} M$), sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) variando el número de pulsos por tren desde 1 a 25. C = control.

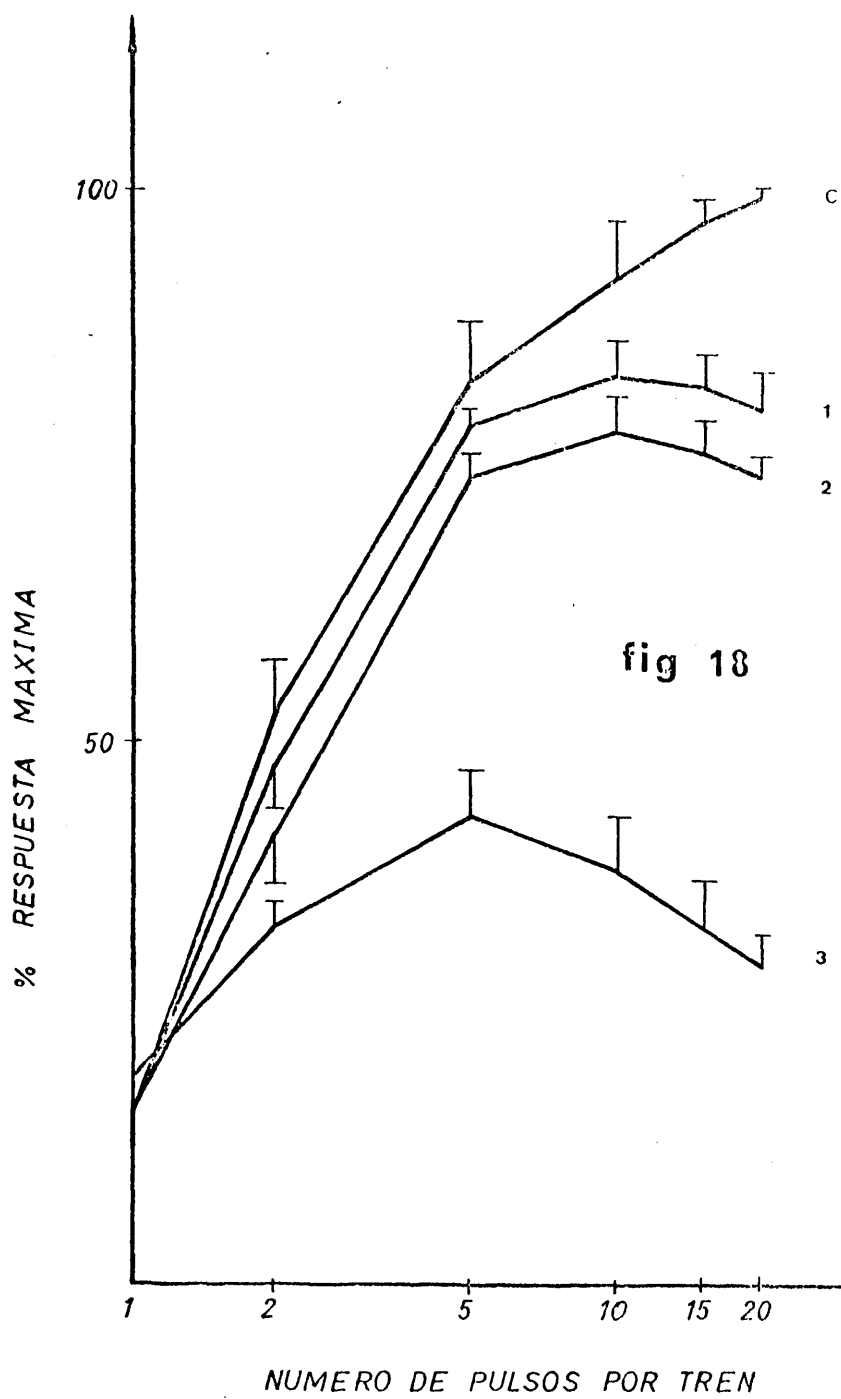


Figura 18.- Efecto del D_{600} sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg). En ordenadas % de la respuesta máxima control. En abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=16 Las barras verticales representan el E.S.M. (C) Control, tras administración de D_{600} , $1 \times 10^{-6} M$ (1), $1 \times 10^{-5} M$ (2) y $1 \times 10^{-4} M$ (3).

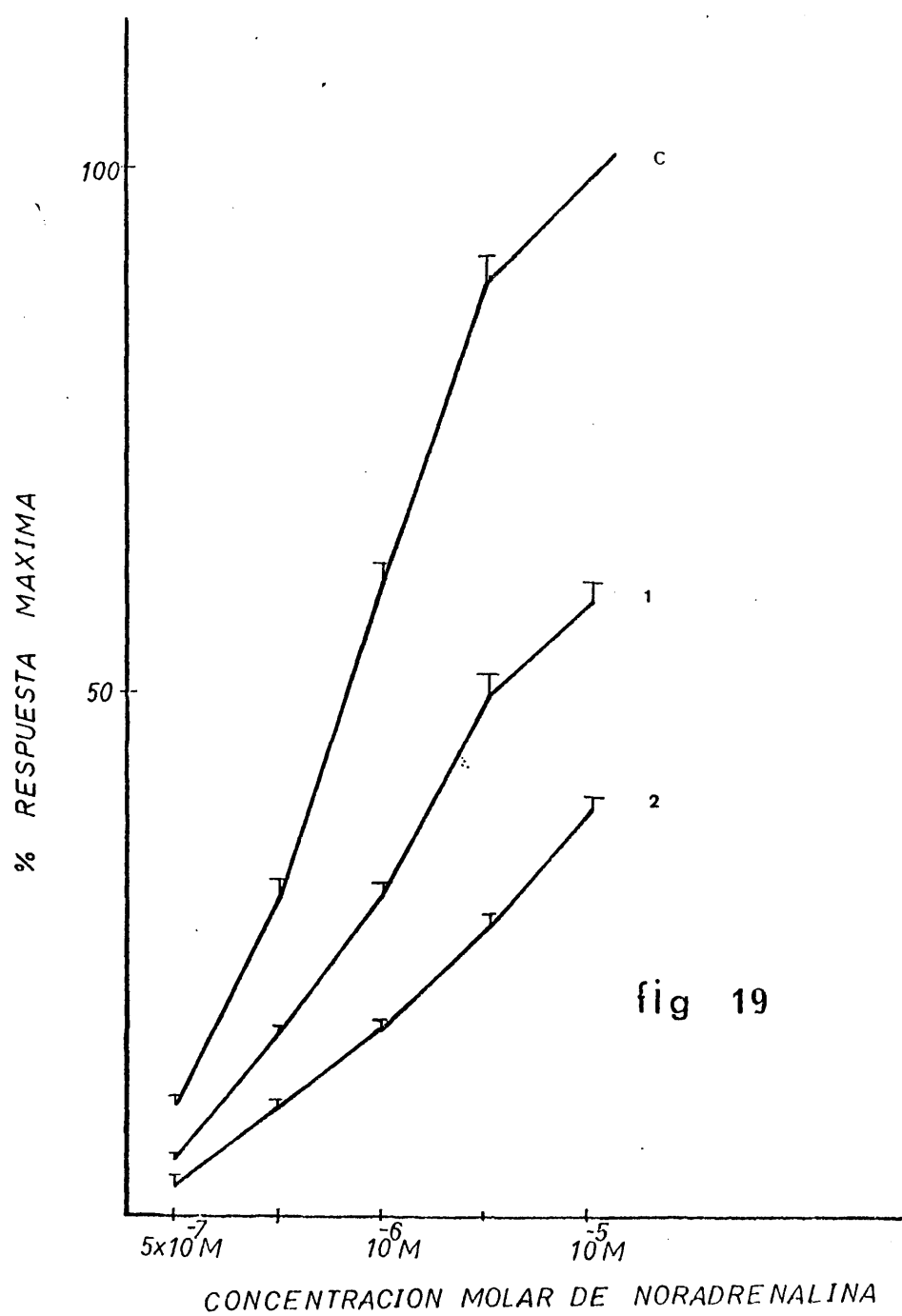


fig 19

Figura 19.- Efecto del Verapamil sobre las contracciones inducidas por Noradrenalina en el conducto deferente aislado de rata; en ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas concentración molar de Noradrenalina, escala log. Cada punto es la media de 8 experimentos. Las barras verticales representan el E.S.M. (C) Control, tras la administración de Verapamil, 1×10^{-6} M (1) 2×10^{-6} M (2).

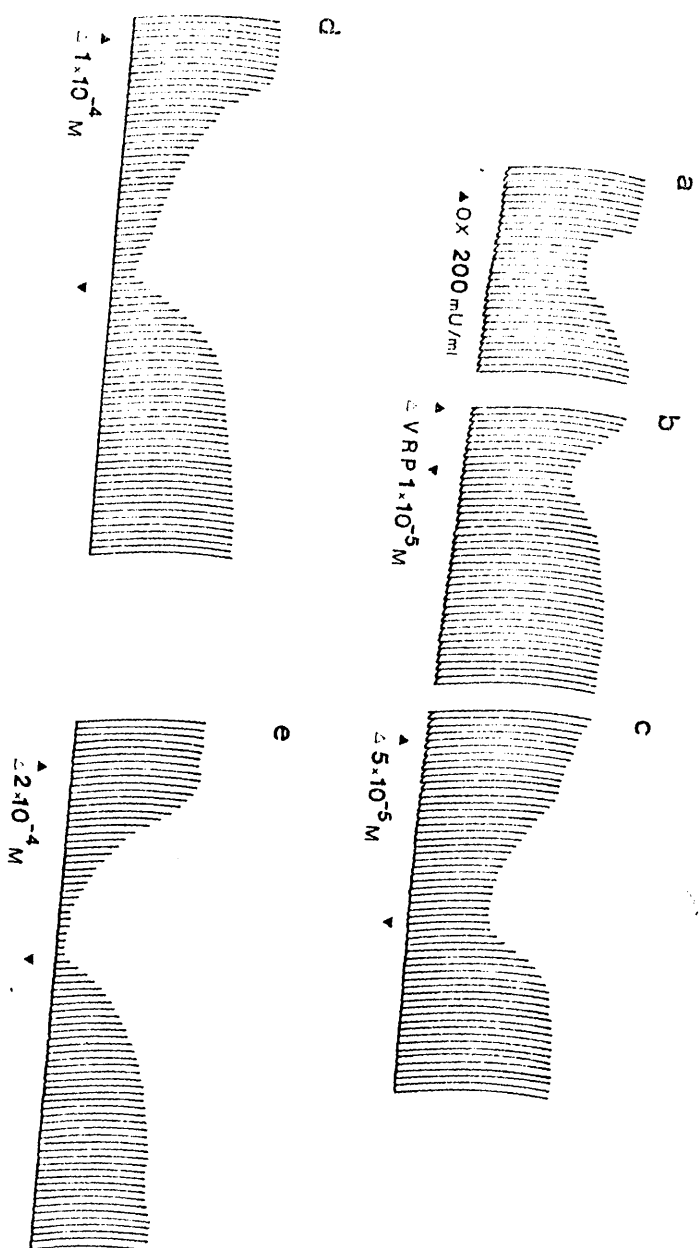


fig 20

Figura 20.- Efecto de la Oxitocina, 200 mU/ml, sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, - duración 1 msg) 5p.p.s. y a intervalos de 1 min, y el potenciamiento de sus efectos por la perfusión simultanea con Verapamil. (▲) Oxitocina, 200 mU/ml (△) Verapamil (1×10^{-5} M- 2×10^{-4} M). (▼) Lavado.

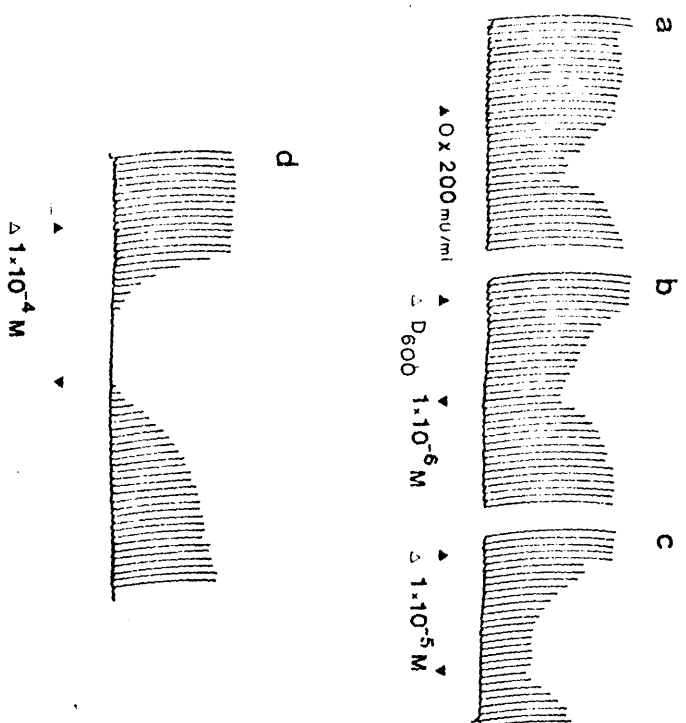


fig 21

Figura 21.- Efecto de la Oxitocina, 200 mU/ml sobre las -
respuestas contráctiles del conducto deferente
de rata obtenidas por estimulación eléctrica -
de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo
duración 1 msg) 5.p.p.s y a intervalos de 1 min
y el potenciamiento de sus efectos por la perfu
sión simultanea con D₆₀₀.
(▲) Oxitocina, 200 mU/ml. (△) D₆₀₀ (1×10^{-6} M-
 1×10^{-4} M). (▼) Lavado.

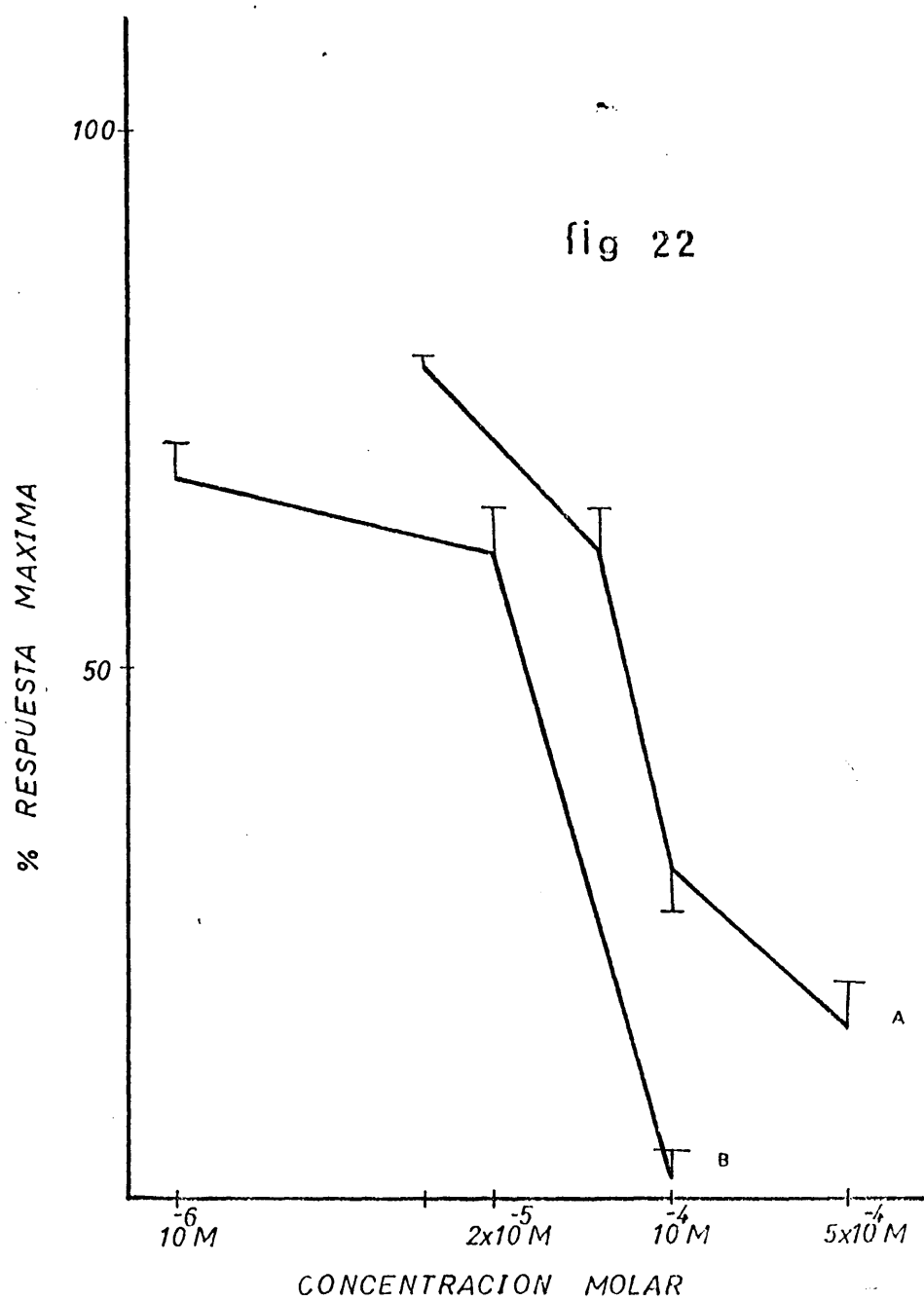


Figura 22.- Representación gráfica de la relación existente entre la inhibición de la respuesta del conducto deferente de rata por 200 mU/ml de Oxitocina y la inhibición por perfusión simultánea con Oxitocina + Verapamil ($1 \times 10^{-5} \text{M}$ - $2 \times 10^{-4} \text{M}$). - Oxitocina + D_{600} ($1 \times 10^{-6} \text{M}$ - $1 \times 10^{-4} \text{M}$). En ordenadas se presenta el % de la respuesta máxima, en abscisas concentraciones molares. N=6. Las barras verticales representan el E.S.M. (A) Inhibición de la contractilidad a los 10 min. de iniciado el flujo con Oxitocina y Verapamil (B). Inhibición de la contractilidad a los 10 min. de la perfusión con Oxitocina y D_{600}

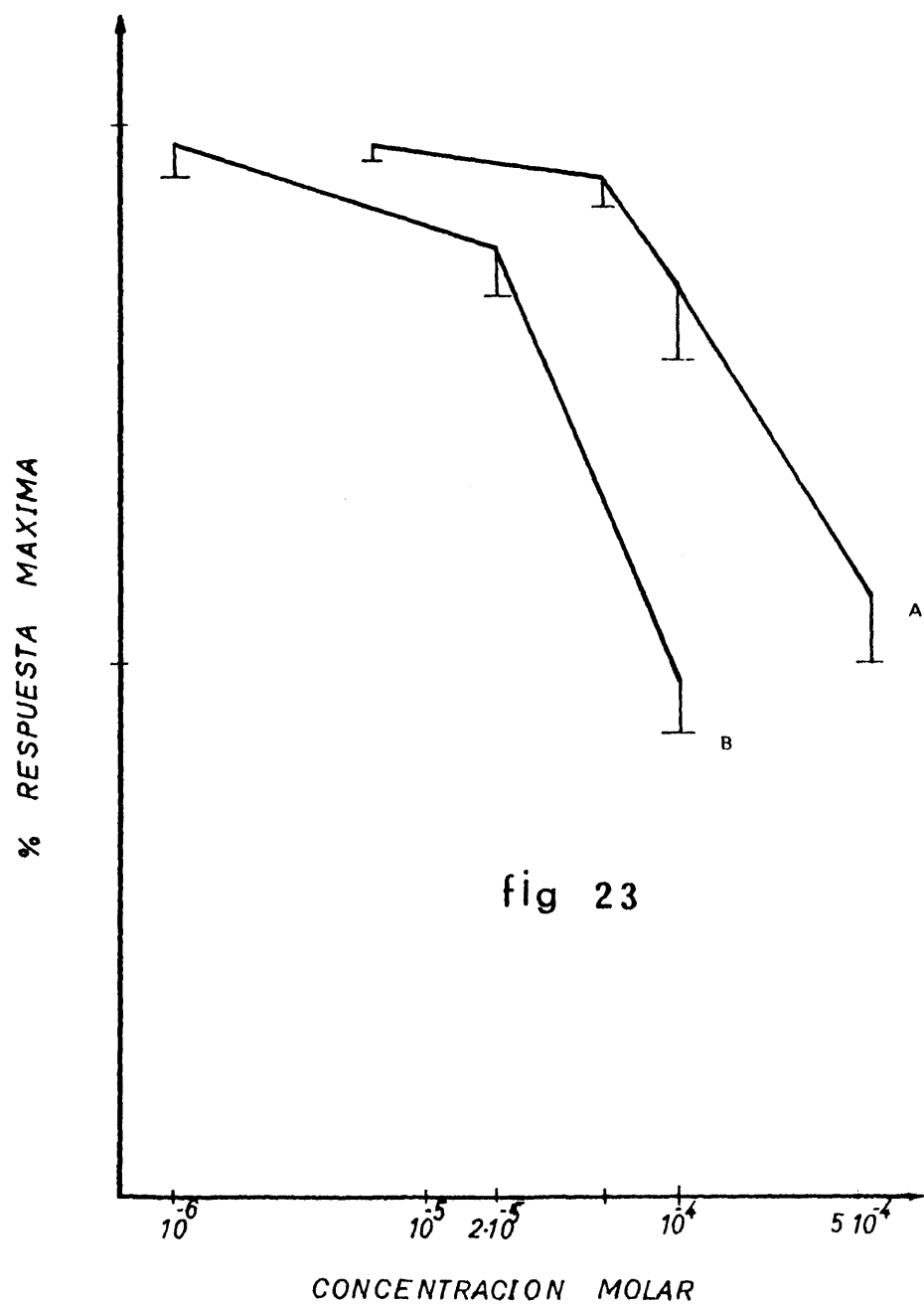


fig 23

Figura 23.- Representación gráfica de la relación existente entre la recuperación de la respuesta a los 10 min. de suspender el flujo con Oxitocina, o con Oxitocina más bloqueantes del calcio: Verapamil (1×10^{-5} M - 2×10^{-4} M) y D_{600} (1×10^{-6} M - 1×10^{-4} M). En ordenadas se representa el % de la respuesta máxima, en abscisas las concentraciones molares ($N=6$). Las barras verticales representan el E.S. M. (A). Recuperación de la contractilidad a los 10 min. de suspender el flujo con Oxitocina más Verapamil (B). Recuperación de la respuesta contractil a los 10 min. de suspender el flujo con Oxitocina más D_{600} .

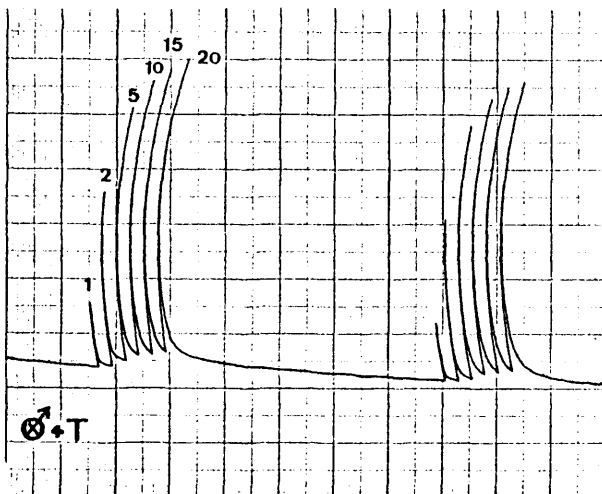
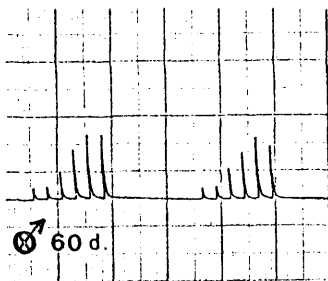


fig 24

Figura 24.- Efecto de la castración sobre la motilidad del conducto deferente de rata y su recuperación - con la administración de Testosterona Panel a) Curva dosis respuesta del deferente a la estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) variando el número de pulsos desde 1 hasta 20. Rata sacrificada a los 60 días de la castración. Panel b) Las mismas condiciones experimentales anteriormente descritas y administración en los últimos 7 días de 0.5 mg/Kg de Testosterona.

fig 25

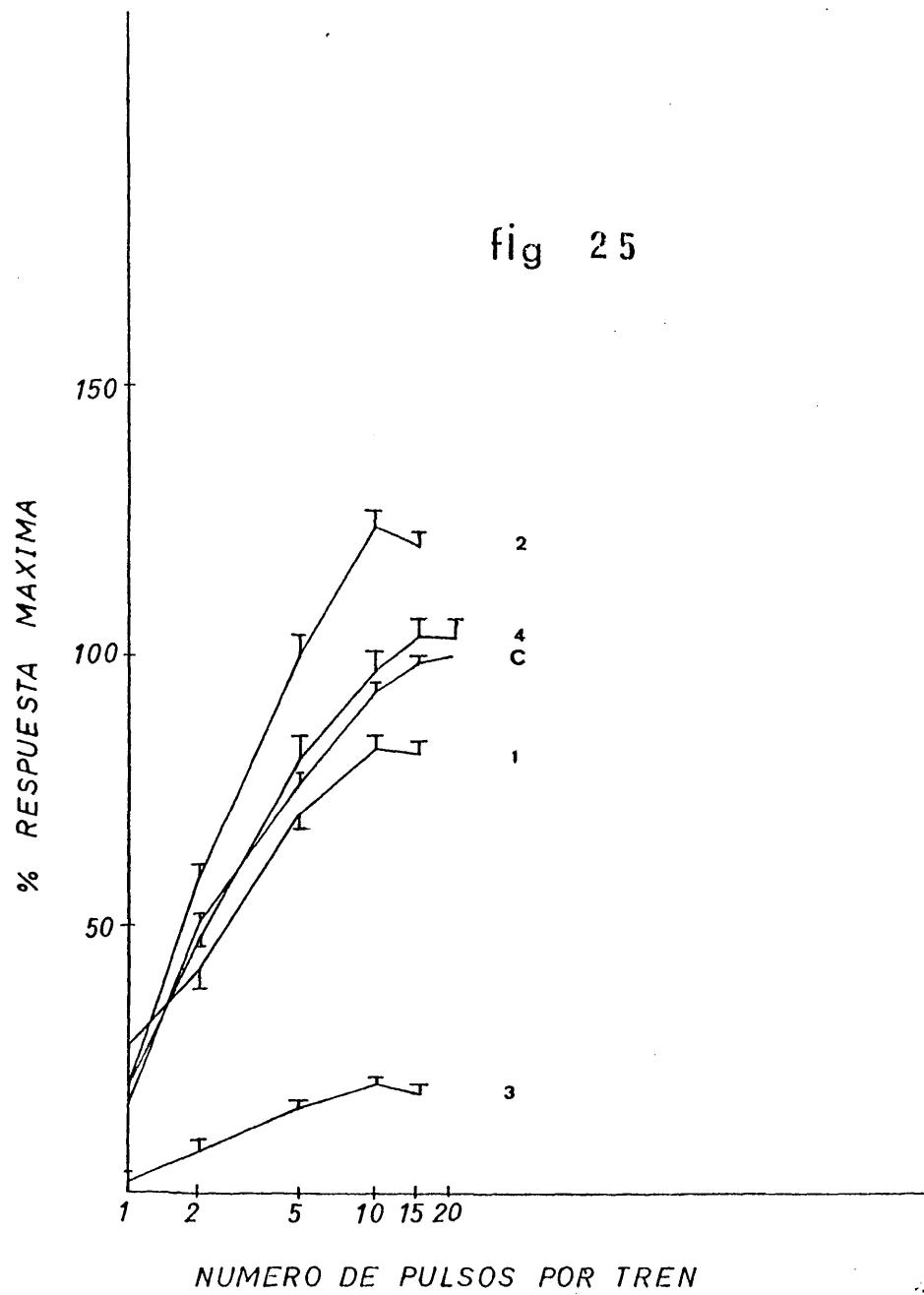


Figura 25.- Efecto de la castración sobre las contracciones del conducto deferente de rata y su recuperación con la administración de propionato de testosterona, inducidas con estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg). En ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas número de pulsos por tren, escala log. $N=10$. Las barras verticales representan el E.S.M.

(C) Control. A los 15 días de la castración (1) 15 días de castración y administración diaria de propionato de testosterona 0,5 mg/Kg por vía subcutánea (2). A los 60 días de la castración (3). A los 60 días de la castración y administración durante los últimos 7 días de propionato de testosterona 0,5 mg/Kg por vía subcutánea (4)

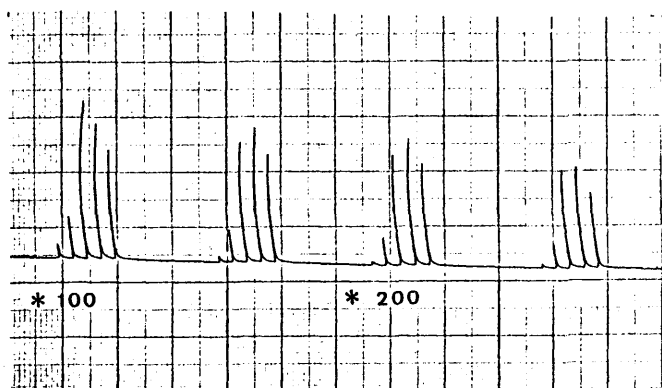
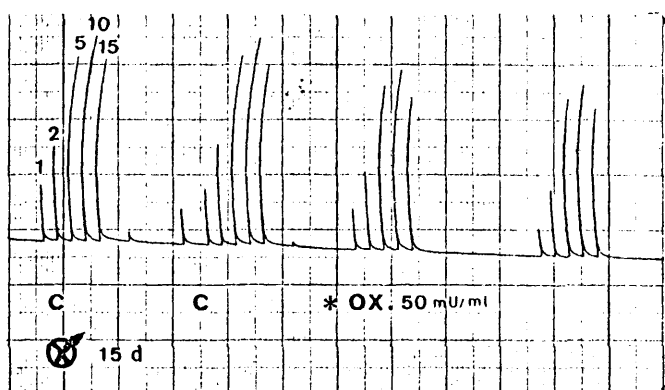


fig 26

Figura 26.- Efecto de dosis sucesivas de Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata castrada, obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz voltaje supramáximo, duración 1 - msg) variando el número de pulsos por tren desde 1 a 15. C = Control. \square castradas 15 días.

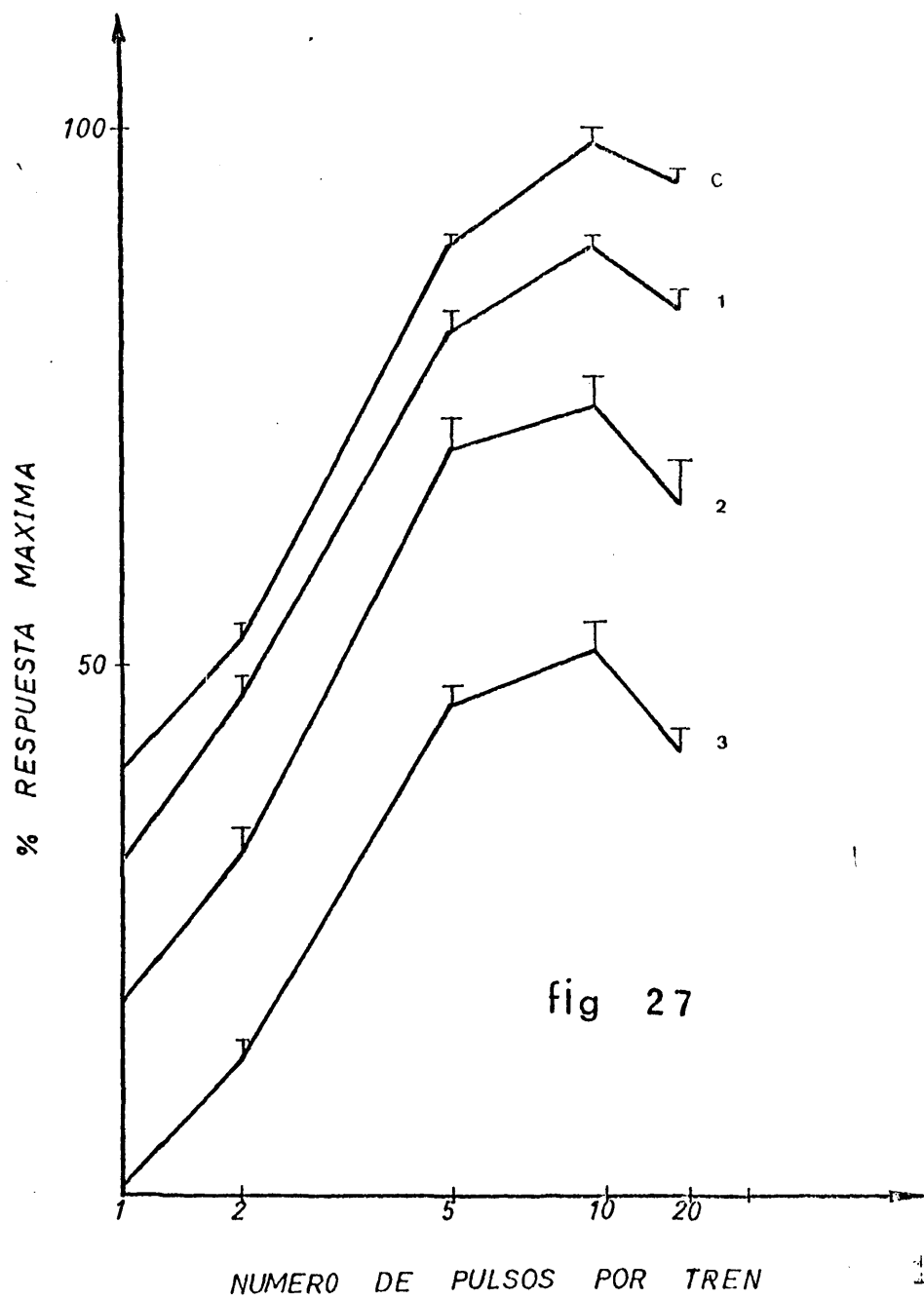


Figura 27.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg). en el conducto deferente de la rata a los 15 días de la castración. En ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=11. Las barras verticales representan el E.S.M. (C) Control. - Oxitocina 50 mU/ml (1). 100 mU/ml (2), 200 - - mU/ml (3).

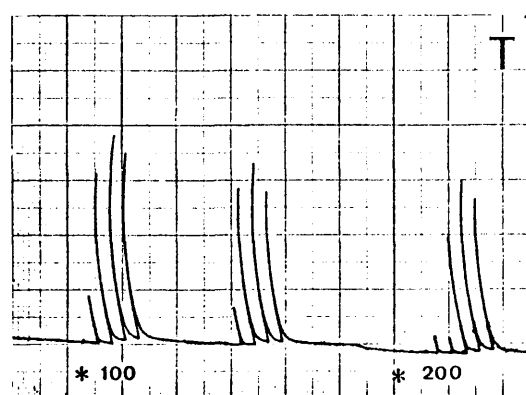
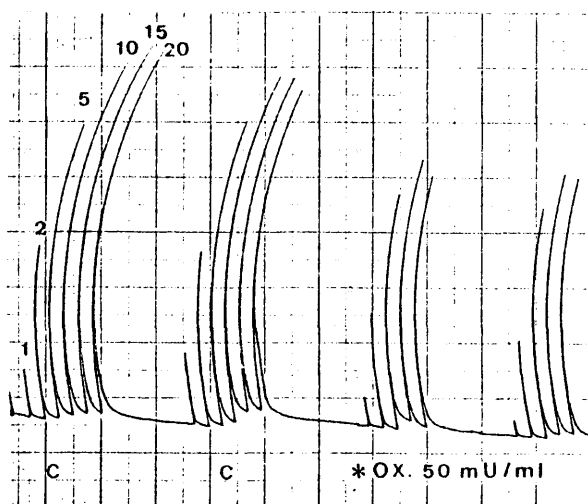


fig 28

Figura 28.- Efecto de dosis sucesivas de Oxitocina (50- 200 mU/ml) sobre las respuestas contráctiles del - conducto deferente de rata a la que se le ha - administrado durante 15 días Testosterona 0.5 mg/Kg, obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo - duración 1 msg) variando el número de pulsos - desde 1 a 20. C = Control. T Testosterona admi - nistrada diariamente durante 15 días por vía - subcutánea.

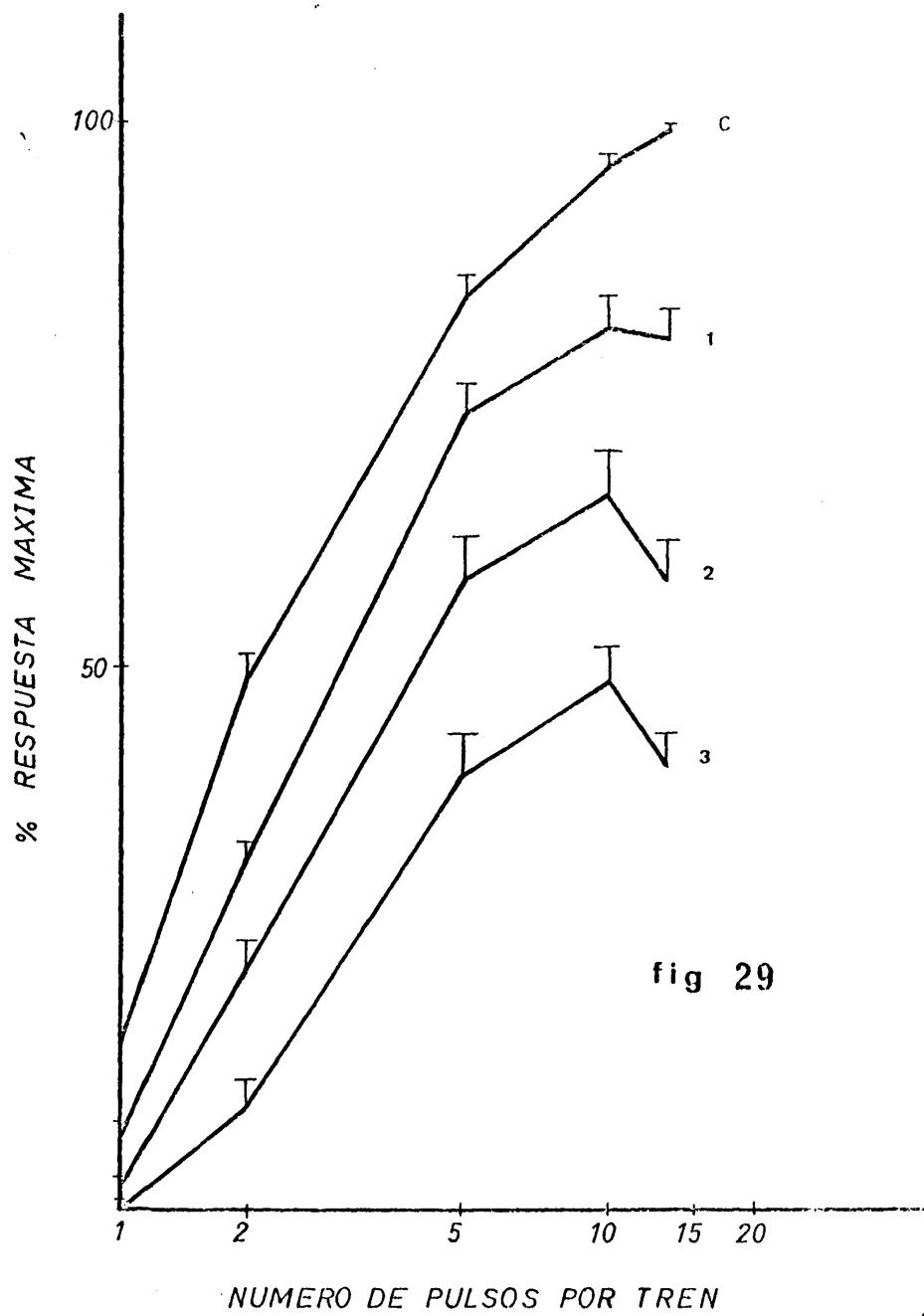


fig 29

Figura 29.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) en el deferente de rata a los 15 días de la administración diaria por vía subcutánea de 0.5 mg/Kg de propionato de testosterona. En ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=10. Las barras verticales representan el E.S.M. (C) Control, tras la administración de Oxitocina - 50 mU/ml (1), 100 mU/ml (2), 200 mU/ml (3).

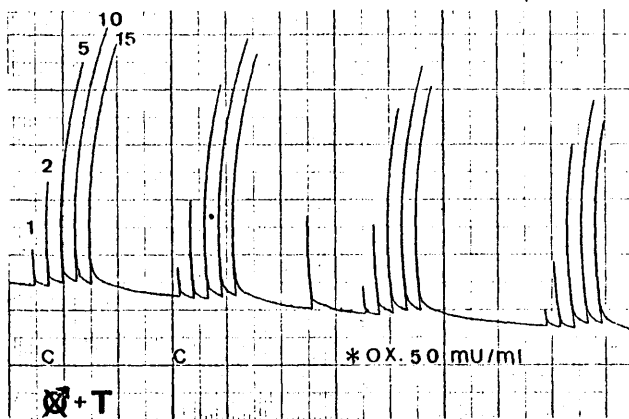


fig 30

Figura 30.- Efecto de dosis sucesivas de Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre las respuestas contráctiles - del conducto deferente de rata castrada y con administración diaria desde el momento de la castración de 0.5 mg/Kg de Propionato de Testosterona, obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, - duración 1 msg). variando el número de pulsos - desde 1 hasta 15. C = Control. \bar{N} castradas de 15 días más administración diaria por vía subcutánea de Testosterona.

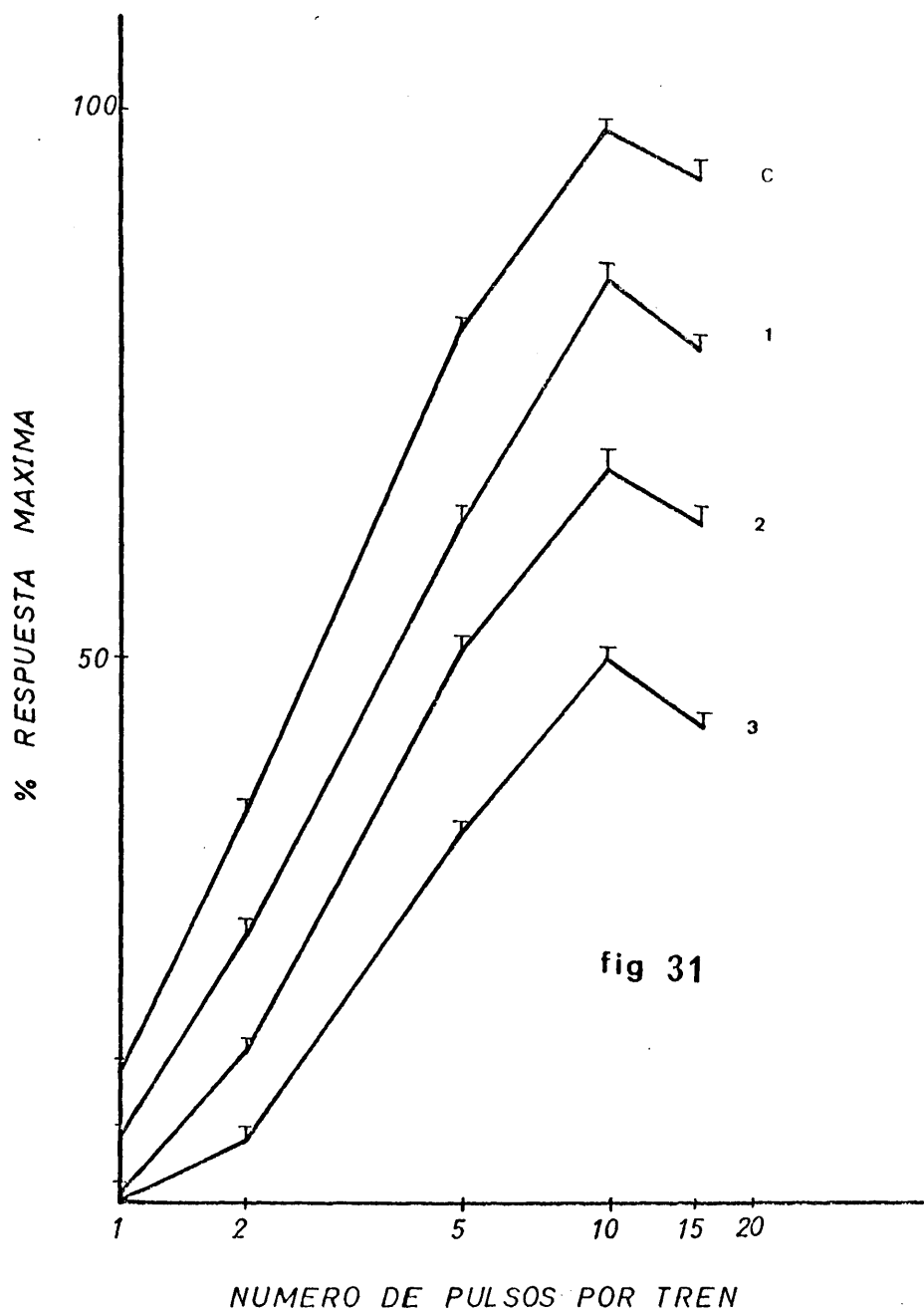


fig 31

Figura 31.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg), en el deferente de rata a los 15 días de castración y administración diaria por vía subcutánea de 0,5 mg/Kg de propionato de testosterona. En ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=16; las barras verticales representan el E.S.M (C) Control, después de la administración de Oxitocina 50 mU/ml (1), 100 mU/ml (2), 200 mU/ml (3)

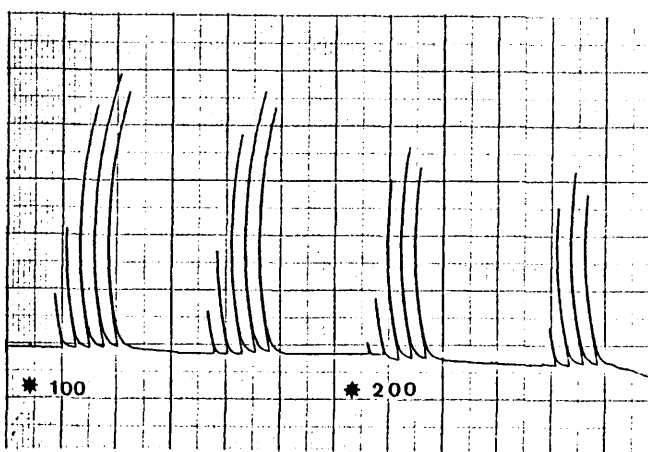
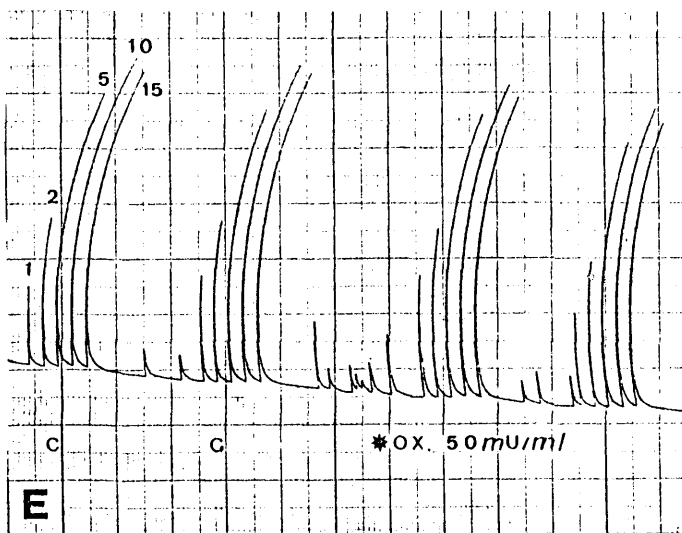


fig 32

Figura 32.- Efecto de dosis sucesivas de Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata a la que se le ha administrado durante 15 días Benzoato de Estradiol 1.7 μ g/Kg, obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supra máximo) variando el número de pulsos desde 1 hasta 15.

C = Control. B Benzoato de estradiol administrado diariamente por vía subcutánea durante 15 días.

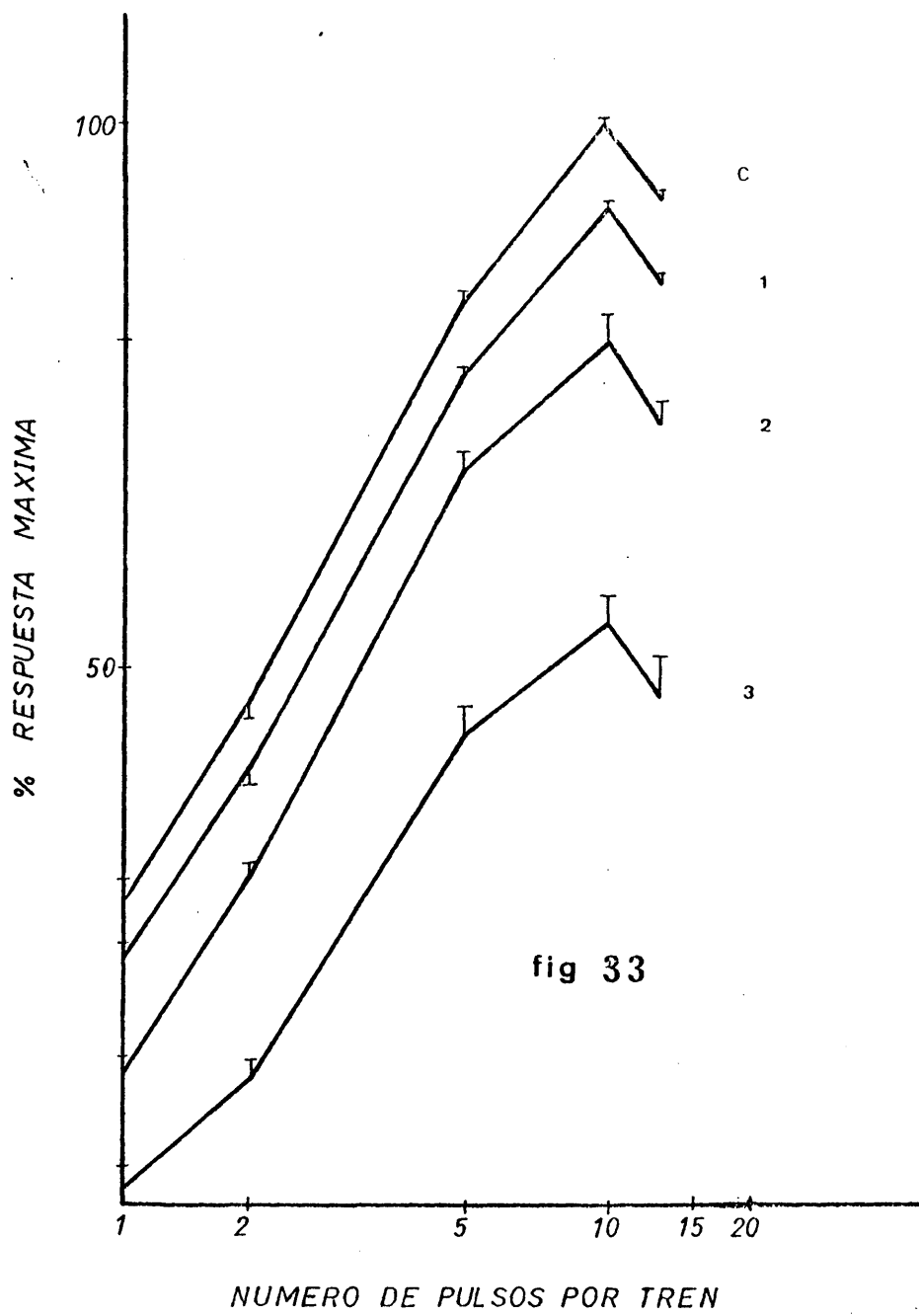


Figura 33.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo - (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) en el deferente de rata a los 15 días de la administración diaria por vía subcutánea de 1.7 ug/Kg de benzoato de estradiol. En ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=10. Las barras - verticales representan el E.S.M. (C) Control, - después de la administración de Oxitocina 50 - mU/ml (1) 100 mU/ml (2) 200 mU/ml (3).

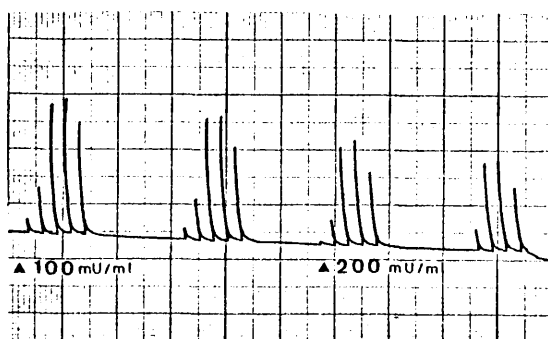
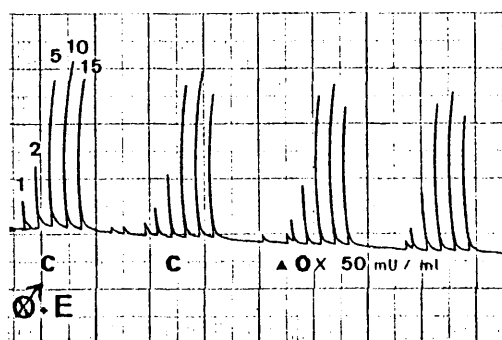


fig 34

Figura 34.- Efecto de dosis sucesivas de Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre las respuestas contráctiles del - conducto deferente de rata castrada y con administración diaria desde el momento de la castración de 17 μ g/Kg de Benzoato de Estradiol, obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1msg) variando el número de pulsos desde 1 hasta 15 . C = Control. E + E castradas de 15 días más administración diaria por vía subcutánea de Benzoato de estradiol.

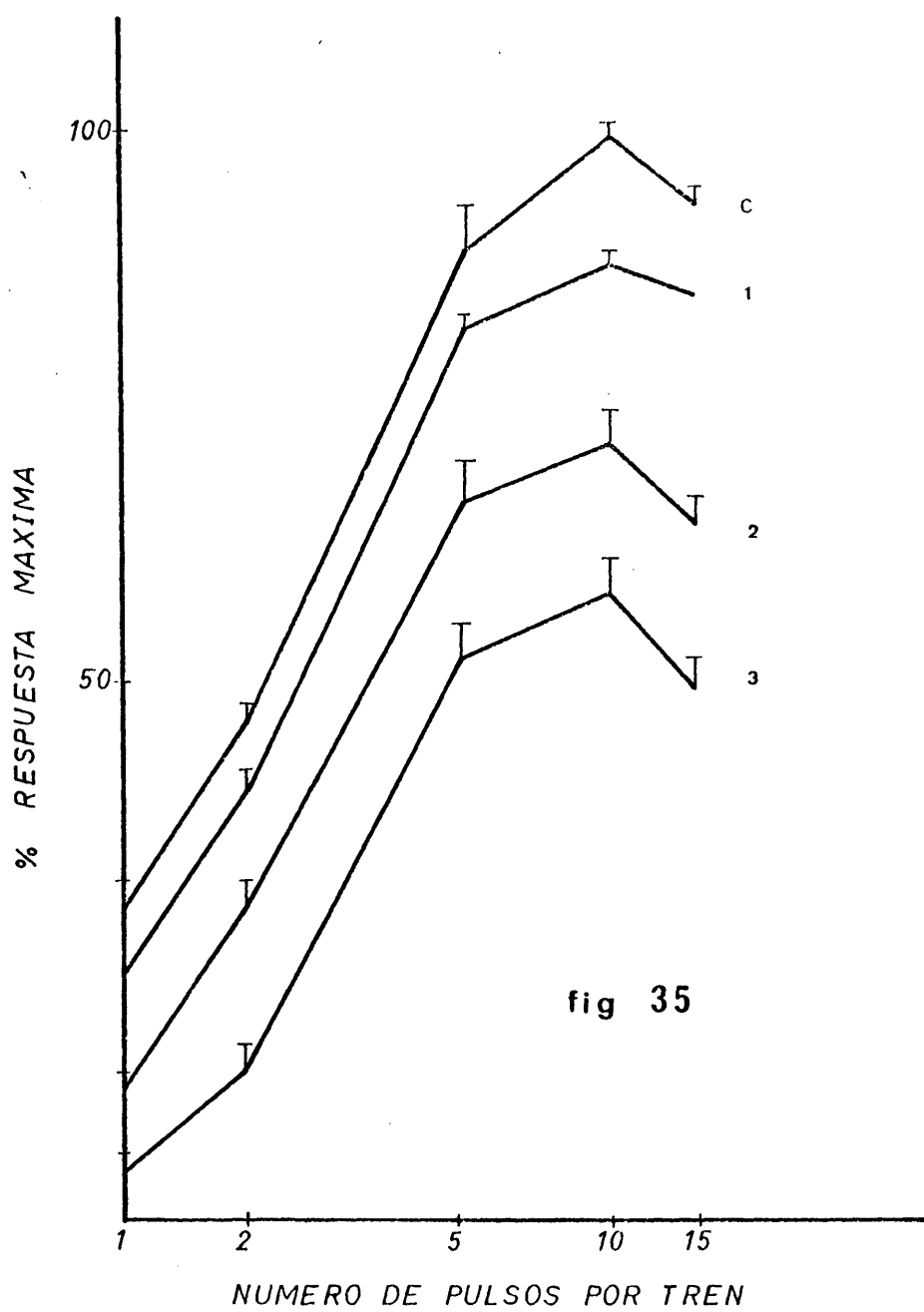


fig 35

Figura 35.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) en el deferente de rata a los 15 días de castración y administración diaria por vía subcutánea de 1.7 mg/Kg de benzoato de estradiol. En abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=10. Las barras verticales representan el E.S.M. (C) Control, después de la administración de Oxitocina 50 mU/ml (). 100 mU/ml (1). 200 mU/ml (3)

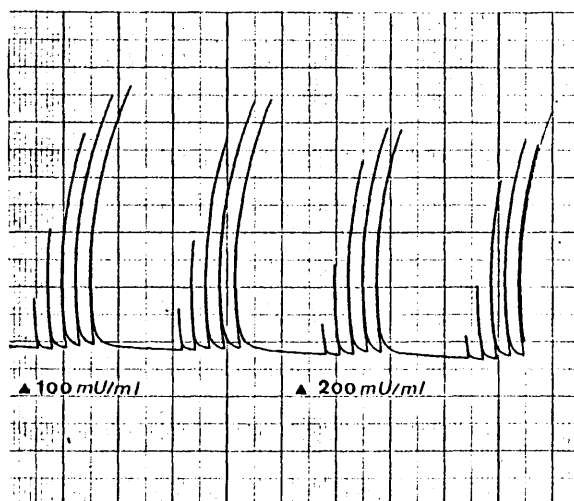
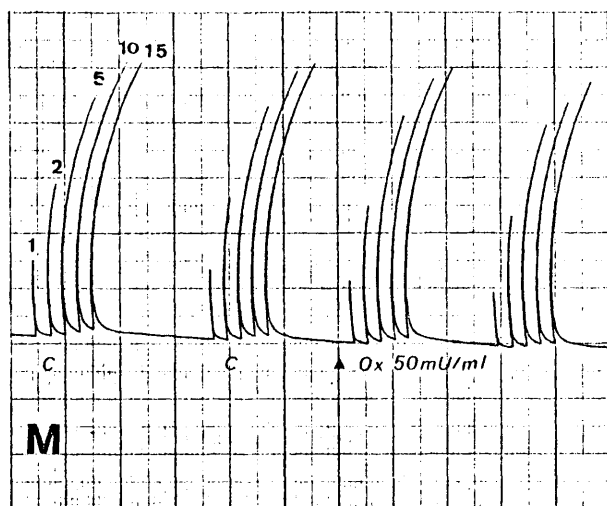


fig 36

Figura 36.- Efecto de dosis sucesivas de Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata a la que se le ha administrado durante 30 días Melatonina 0.5 mg/Kg, obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) variando el número de pulsos - desde 1 hasta 15. C = Control M = Melatonina - administrada diariamente por vía subcutánea durante 30 días.

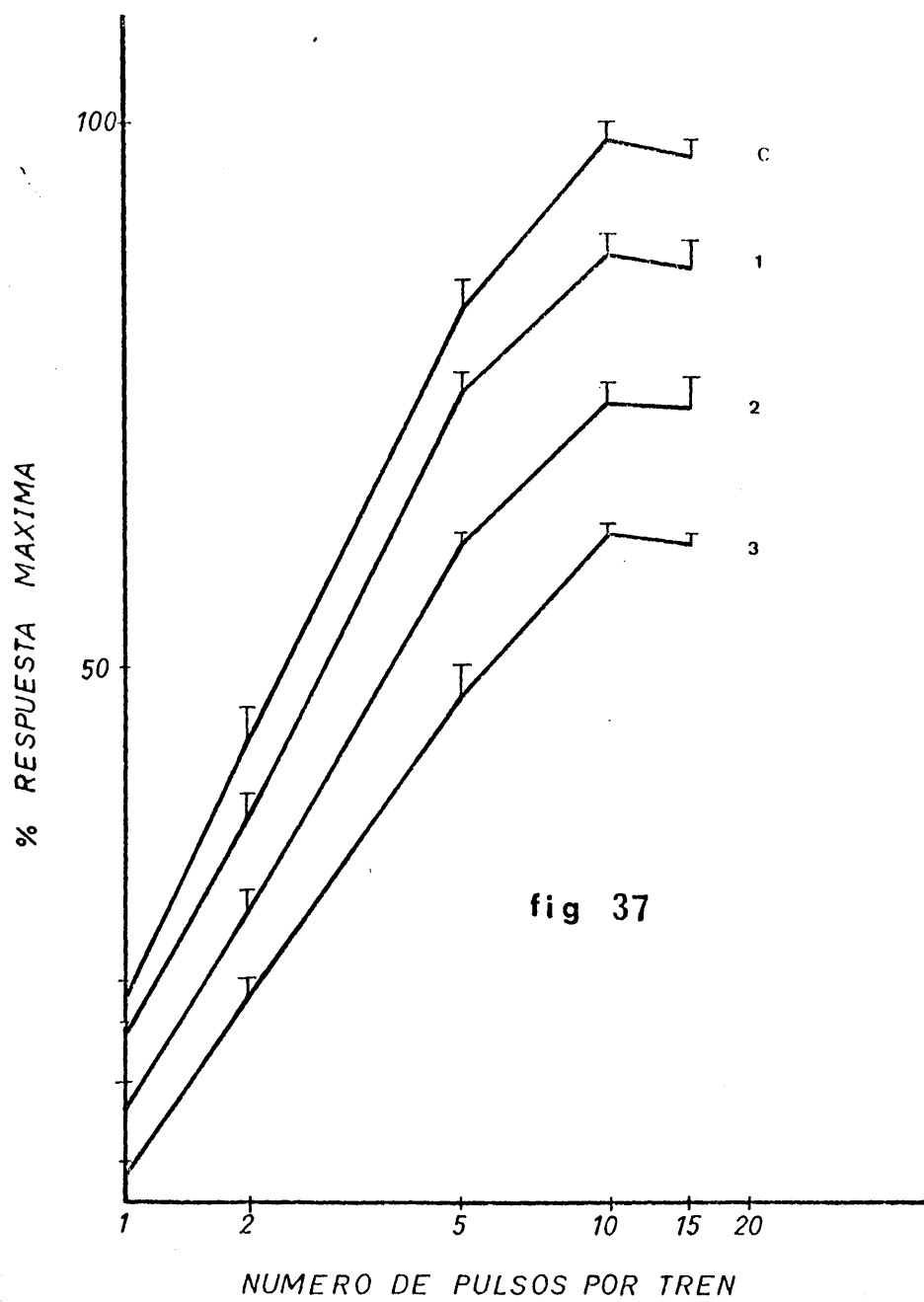


fig 37

Figura 37.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) en el deferente de rata a los 30 días de la administración diaria por vía subcutánea de 0.5 mg/Kg de Melatonina. En ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=10. Las barras verticales representan el E.S.M. (C) Control, después de la administración de Oxitocina 50 mU/ml (1), 100 mU/ml (2), 200 mU/ml (3).

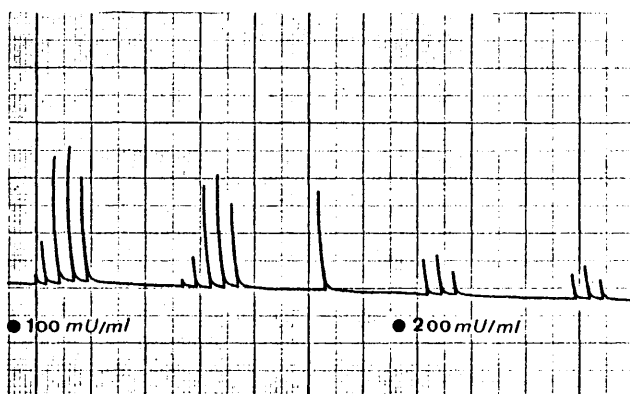
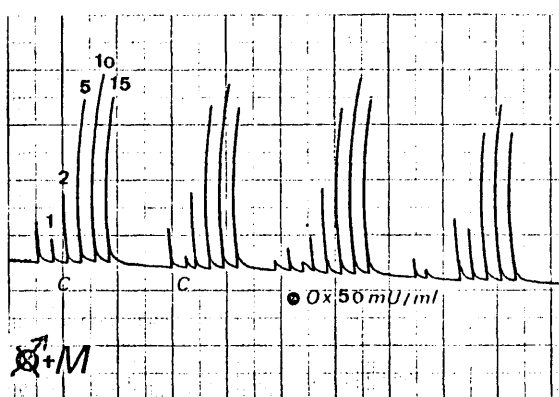


fig 38

Figura 38.- Efecto de dosis sucesivas de Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre las respuestas contráctiles del - conducto deferente de rata a los 30 días de castrada y de administración diaria de 0.5 g/kg de Melatonina obtenidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supra máximo, duración 1 msg) variando el número de pulsos desde 1 hasta 15. C = Control M + M castradas de 30 días más administración subcutánea de Melatonina.

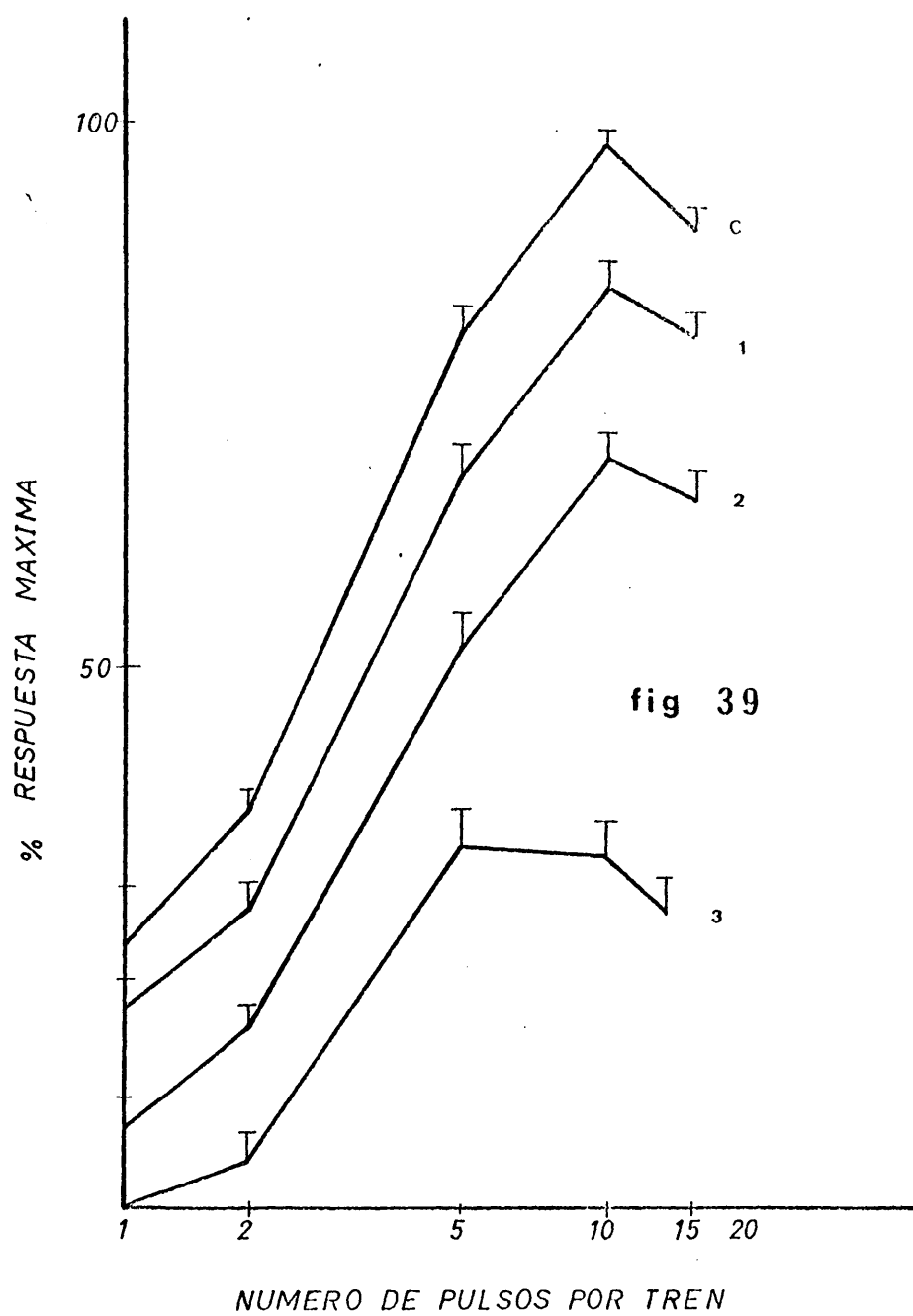


fig 39

Figura 39.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) en el deferente de rata a los 30 días de castración y administración diaria por vía subcutánea de 0.5 mg/kg de Melatonina. En ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=10. Las barras verticales representan el E.S.M. (C) Control después de la administración de Oxitocina 50 mU/ml (1), 100 mU/ml (2) 200 mU/ml (3).

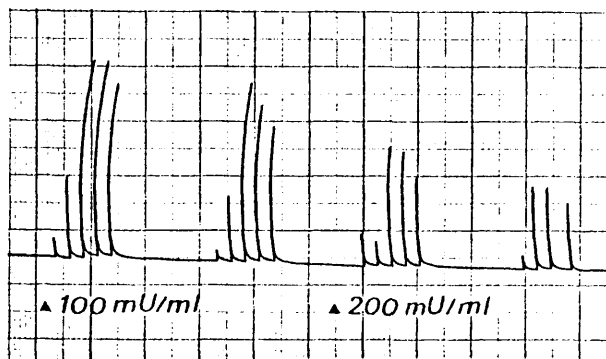
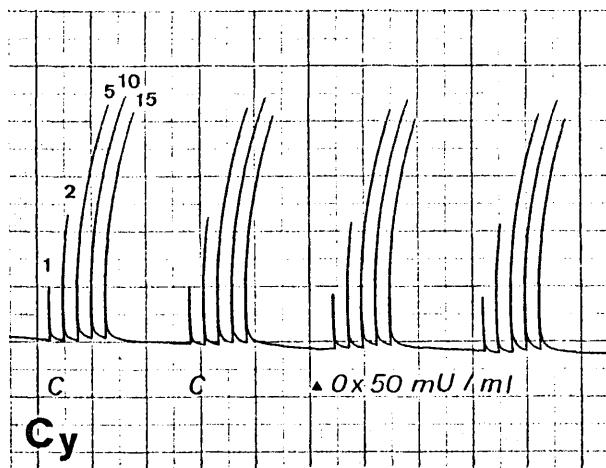


fig 40

Figura 40.- Efecto de dosis sucesivas de Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre las respuestas contráctiles del conducto deferente de rata después de la administración por vía subcutánea de 50 mg/kg de Acetato de Cyproterona durante 30 días, obtenidas por estimulación eléctrica de campo - (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) variando el número de pulsos desde 1 hasta 15 .

C = Control. C = Acetato de Cyproterona administrado por vía subcutánea durante 30 días.

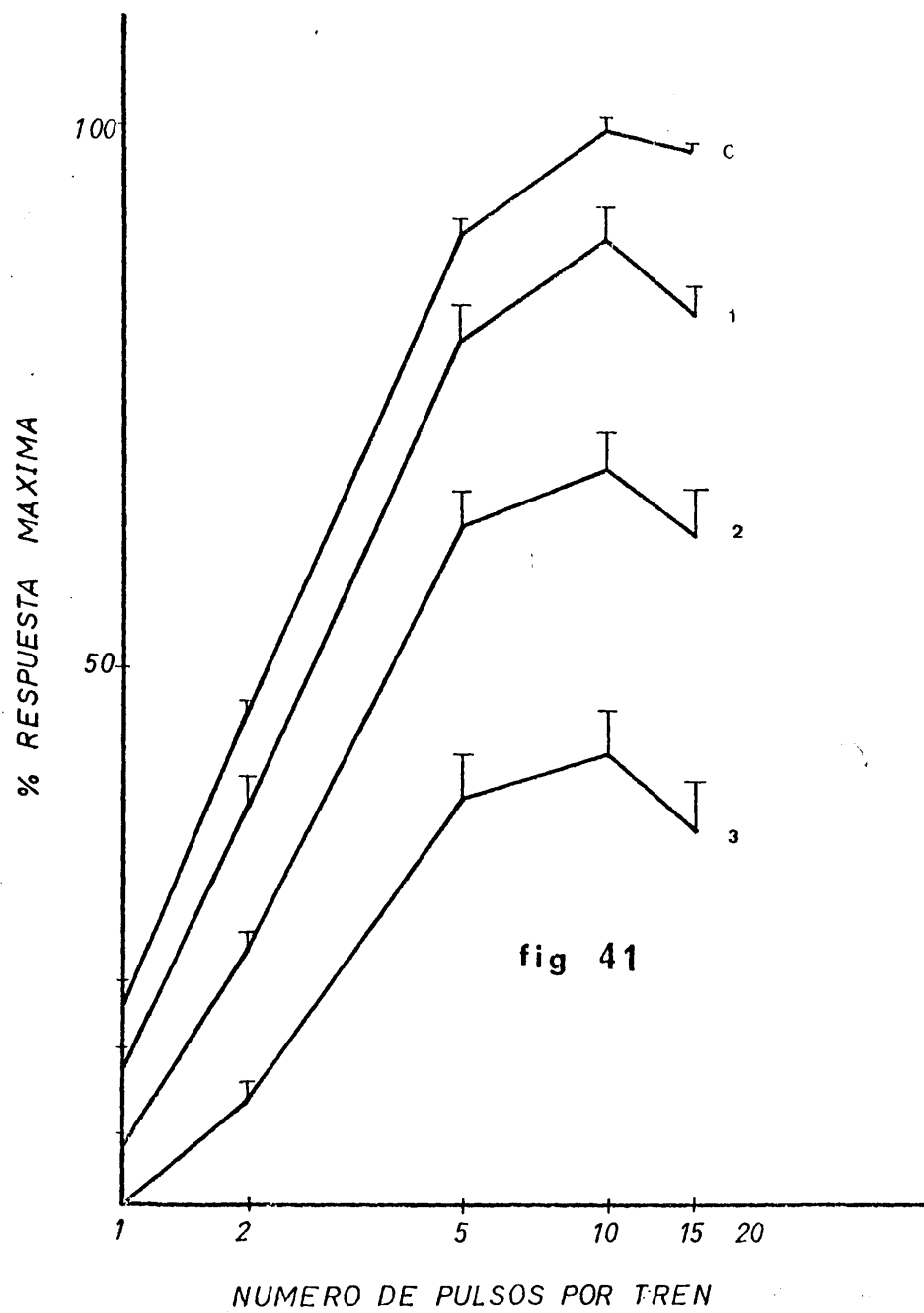


Figura 41.- Efecto de la Oxitocina sobre las contracciones inducidas por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) en el deferente de rata a los 30 días de la administración diaria por vía subcutánea de 50 mg/kg de Acetato de Cyproterona. In ordenadas % de la respuesta máxima, en abscisas número de pulsos por tren, escala log. N=10. Las barras verticales representan el E.S.M (Control, tras la administración de Oxitocina 10 mU/ml (1), 100 mU/ml (2), 200 mU/ml (3)).

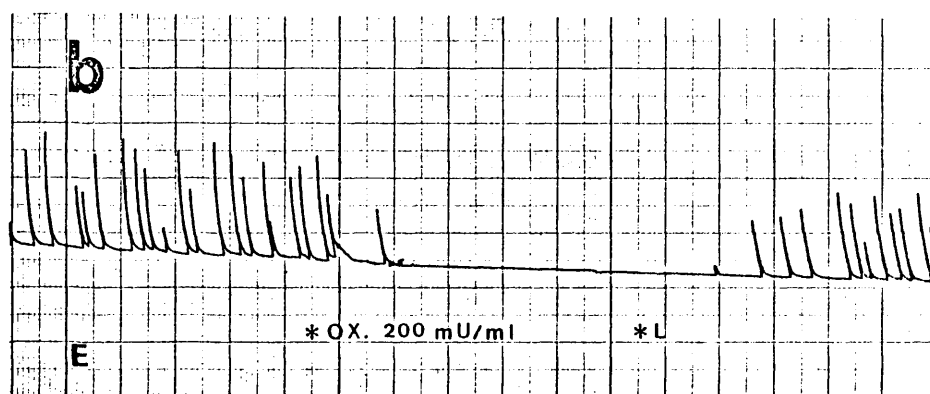
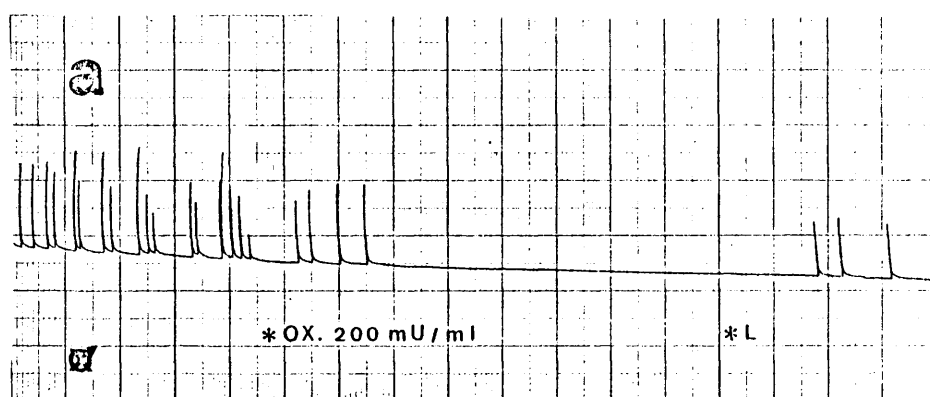


fig 42

Figura 42.- Efecto de la Oxitocina (200 mU/ml) sobre las contracciones espontáneas en distintas situaciones experimentales.

Panel a) Contracciones espontáneas en rata castrada de 15 días.

Panel b) Contracciones espontáneas en rata tratada con Benzoato de Estradiol 1.7ug/Kg por vía subcutánea.

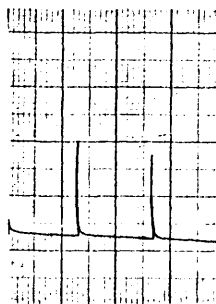
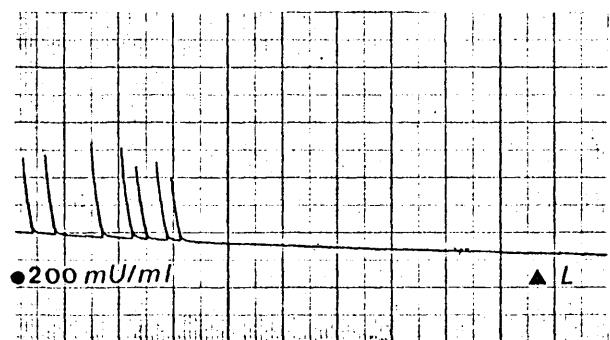
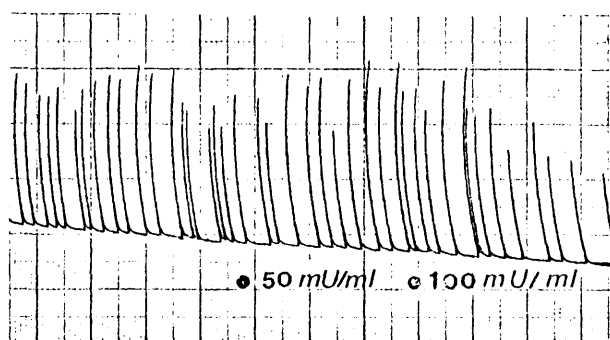


fig 43

Figura 43.- Efecto de la Oxitocina (50-200 mU/ml) sobre las contracciones espontáneas del conducto deferente de rata.

fig 44

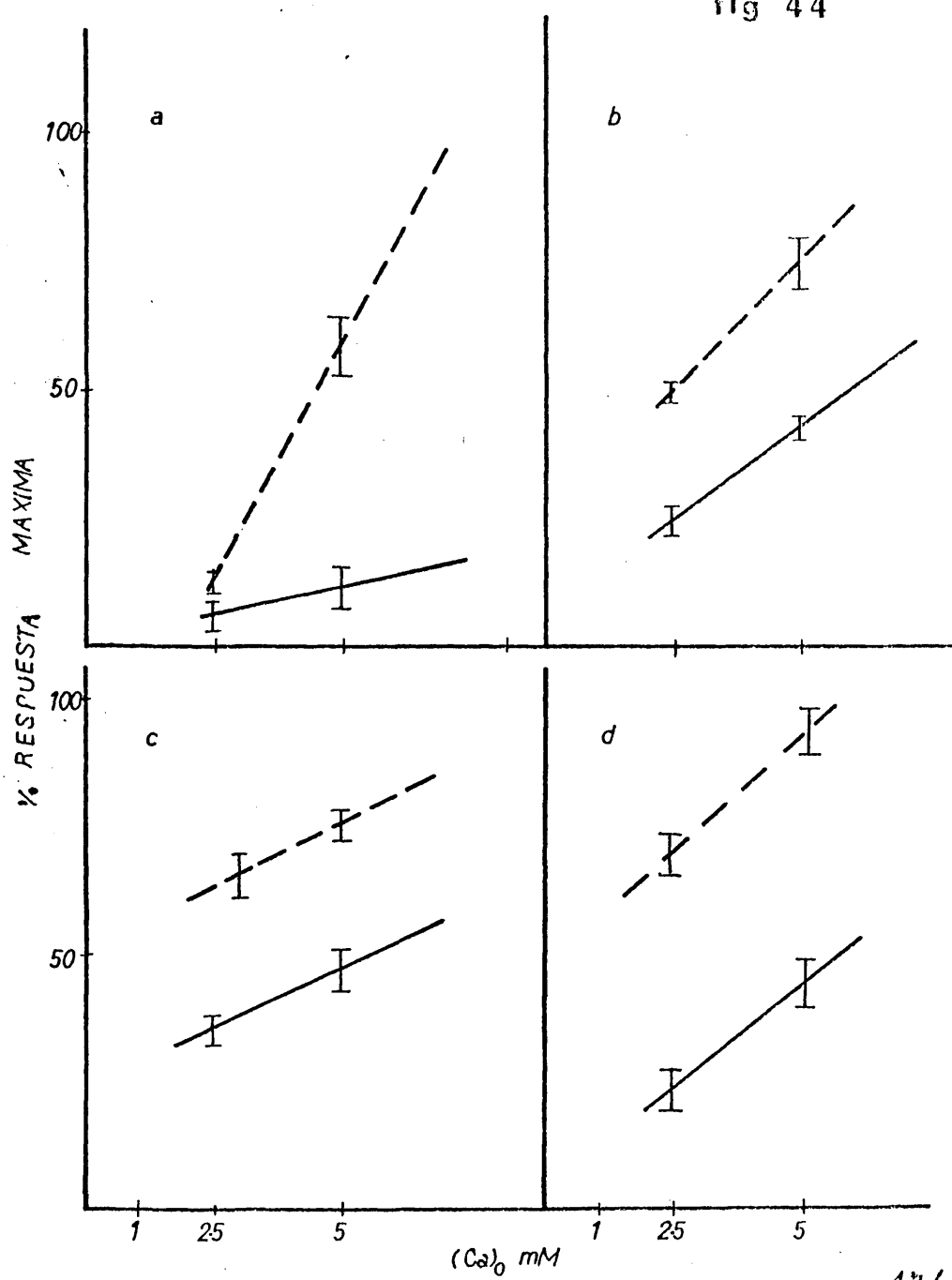


Figura 44.- Representación gráfica de la relación lineal existente entre la concentración mM de calcio del líquido de perfusión y los efectos de la Oxitocina sobre el conducto deferente de rata en distintas situaciones experimentales.

Ordenadas % de la respuesta máxima. Abscisas concentración mM de calcio. Inhibición de la contractilidad del conducto deferente a los 10 min. de iniciada la perfusión con Oxitocina 200 mU/mL

--- Recuperación de la contractilidad del conducto deferente a los 10 min. después de suspender el flujo con oxitocina 200 mU/mL. Los números entre paréntesis (n) significan el número de experimentos. Las barras verticales representan el E.S.M. Panel a) Ratas sacrificadas a los 15 días de la castración. Panel b) Ratas a las que se les administró durante 15 días propionato de testosterona 0.5 mg/kg por vía subcutánea. Panel c) Ratas castradas y a las que se les administró una dosis diaria de 0.5 mg/kg durante 15 días de propionato de testosterona. Panel d) Ratas tratadas durante 30 días con acetato de cyproterona por vía subcutánea y a la dosis de 50 mg/kg.

fig 45

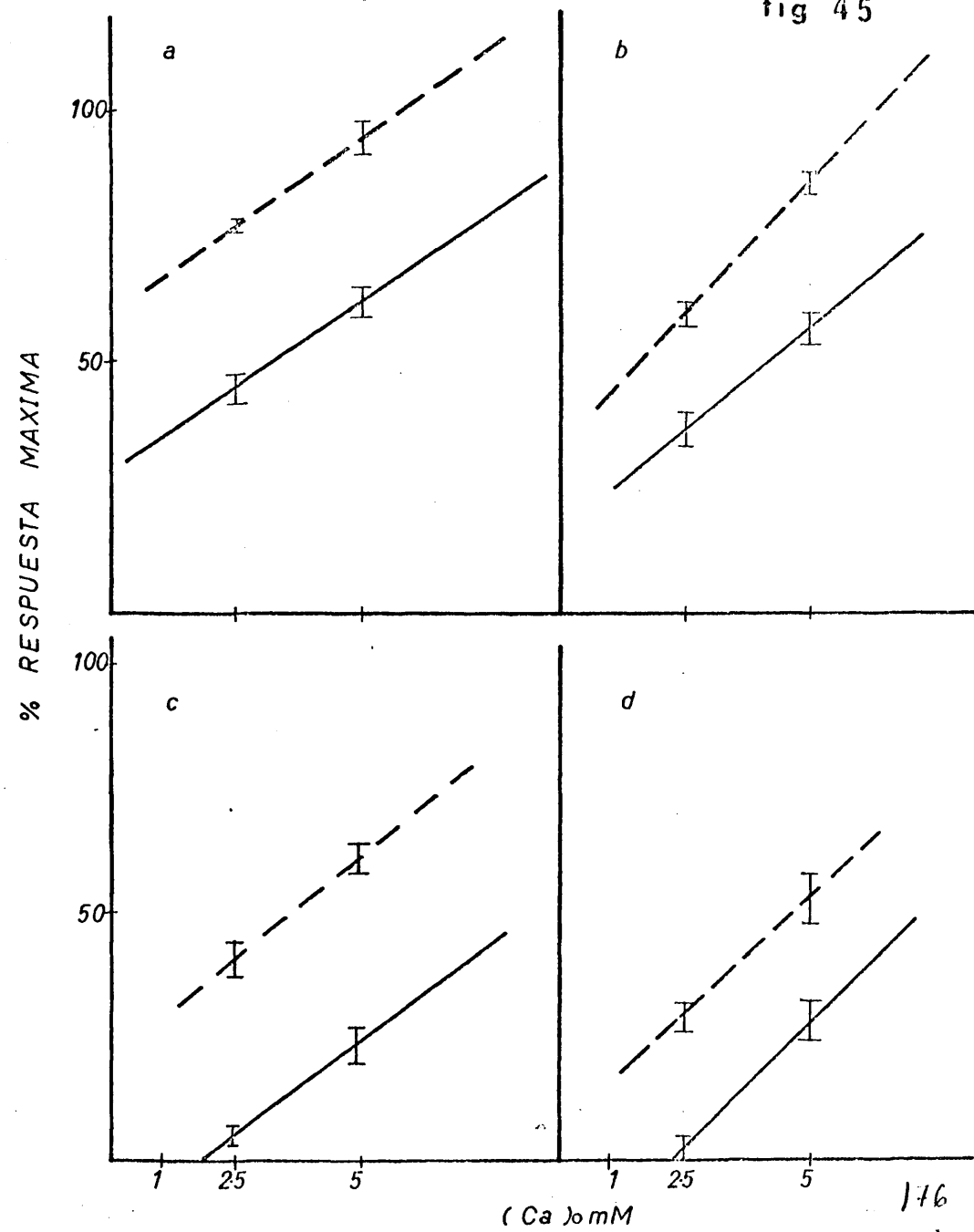


Figura 45.- Representación gráfica de la relación lineal existente entre la concentración mM de calcio del líquido de perfusión y los efectos de la oxitocina sobre el conducto deferente de rata en distintas situaciones experimentales.

Ordenadas % de la respuesta máxima. Abscisas - concentración mM de calcio, Inhibición de la contractilidad del conducto deferente a los 1) min. de iniciado el flujo con Oxitocina 200 mU/ml

-- -- Recuperación de la contractilidad del conducto deferente a los 10 min. de suspender la perfusión de Oxitocina 200 mU/ml. Los números entre paréntesis (n) significan el número de experimentos. Las barras verticales representan el E.S.M. Panel a) Ratas a las que se les administró diariamente por vía subcutánea 1.7 mg/kg de benzoato de estradiol durante 15 días. Panel b) Ratas inyectadas diariamente por vía subcutánea con 1.7 mg/kg de benzoato de estradiol. Panel d) Ratas castradas y administración diaria durante 30 días de Melatonina 0.5 mg/kg por vía subcutánea.

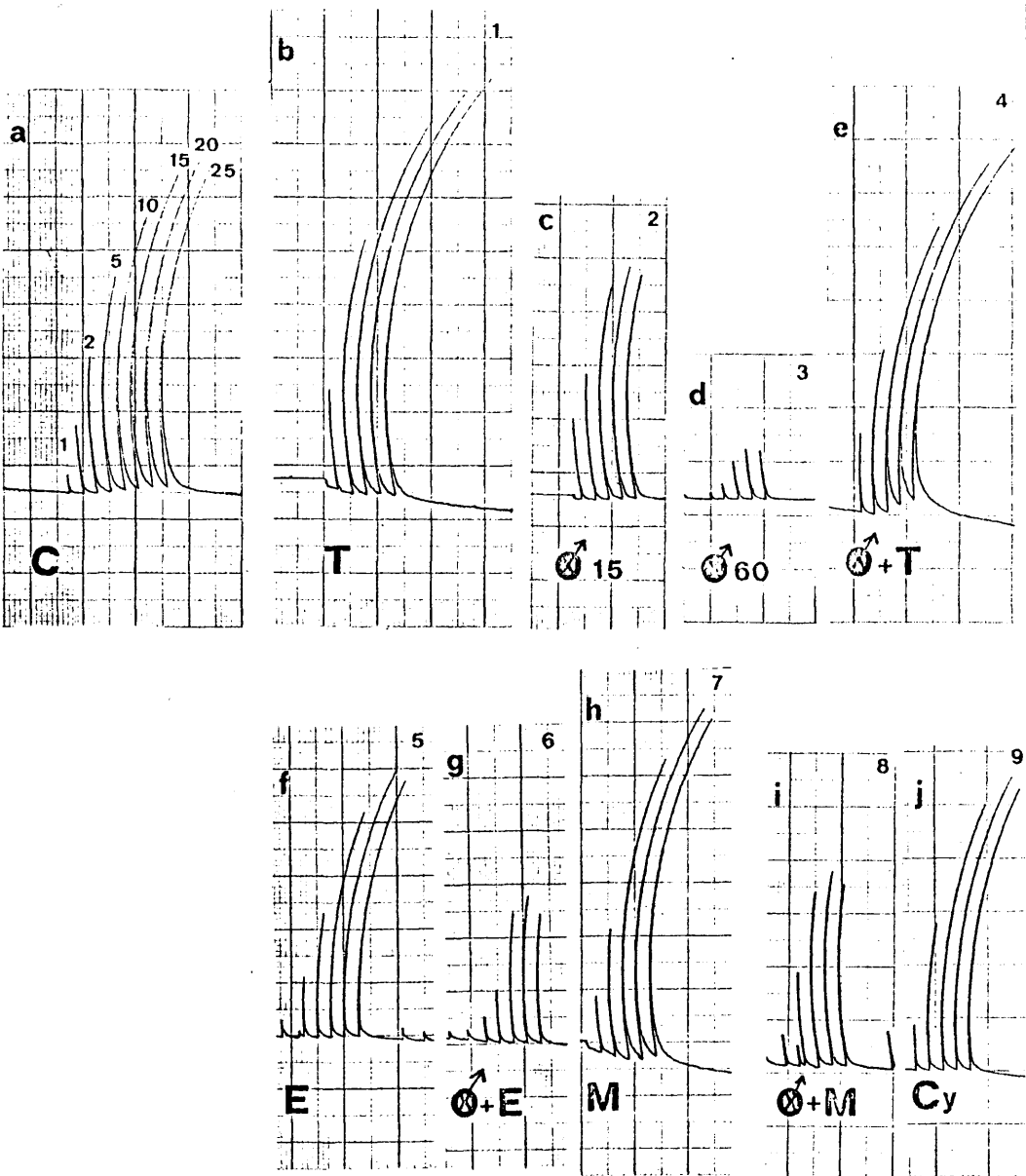


fig 46

Figura 46.- Diferencia del comportamiento del conducto defecante de rata, en distintas situaciones experimentales, a la estimulación eléctrica de campo, (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg) variando el número de pulsos desde 1 hasta aquel en que se obtenía la respuesta máxima con la siguiente secuencia (1-2-5-10-15-20-25). Paneles a) Control. b) Tratamiento con Testosterona 0.5 mg/kg día por vía subcutánea durante 15 días. c) A los 15 días de realizada la castración. d) A los 60 días de realizada la castración e) Animales tratados con Testosterona 0.5 mg/kg vía subcutánea durante 15 días después de realizada la castración. f) Tratamiento con Benzoato de estradiol. g/kg por vía subcutánea durante 15 días. g) Animales castrados y tratados durante 15 días con Benzoato de estradiol por vía subcutánea con Melatonina g/kg. i) Animales castrados y tratados durante 30 días con Melatonina g/kg por vía subcutánea. j) Animales tratados durante 30 días con Acetato de Cyproterona g/kg por vía subcutánea.



Figura 46 bis.- Efectos en las distintas situaciones experimentales sobre la motilidad del conducto deferente de rata obtenido por estimulación eléctrica de campo (frecuencia 10 Hz, voltaje supramáximo, duración 1 msg). Ordenadas % de la respuesta máxima control. Abscisas número de pulsos por tren, escala log. Las barras verticales representan el E.S.M. N= número de experimentos.

(C) Control. Tras administración de propionato de testosterona 0.5 mg/kg subcutánea (1) Después de 15 días de la castración (2) castradas de 60 días (3). Castradas de 15 días y administración de propionato de testosterona 0.5 mg/kg (4) Administración de benzoato de estradiol durante 15 días por vía subcutánea de 1.7 mg/kg de Benzoato de estradiol. (6) Administración durante 30 días de Melatonina 0.5 mg/kg por vía subcutánea. (7) Castradas y administración de Melatonina 0.5 mg/kg por vía subcutánea. (8) Ratas inyectadas durante 30 días con Acetato de cyproterona 50 mg/kg por vía subcutánea (9).

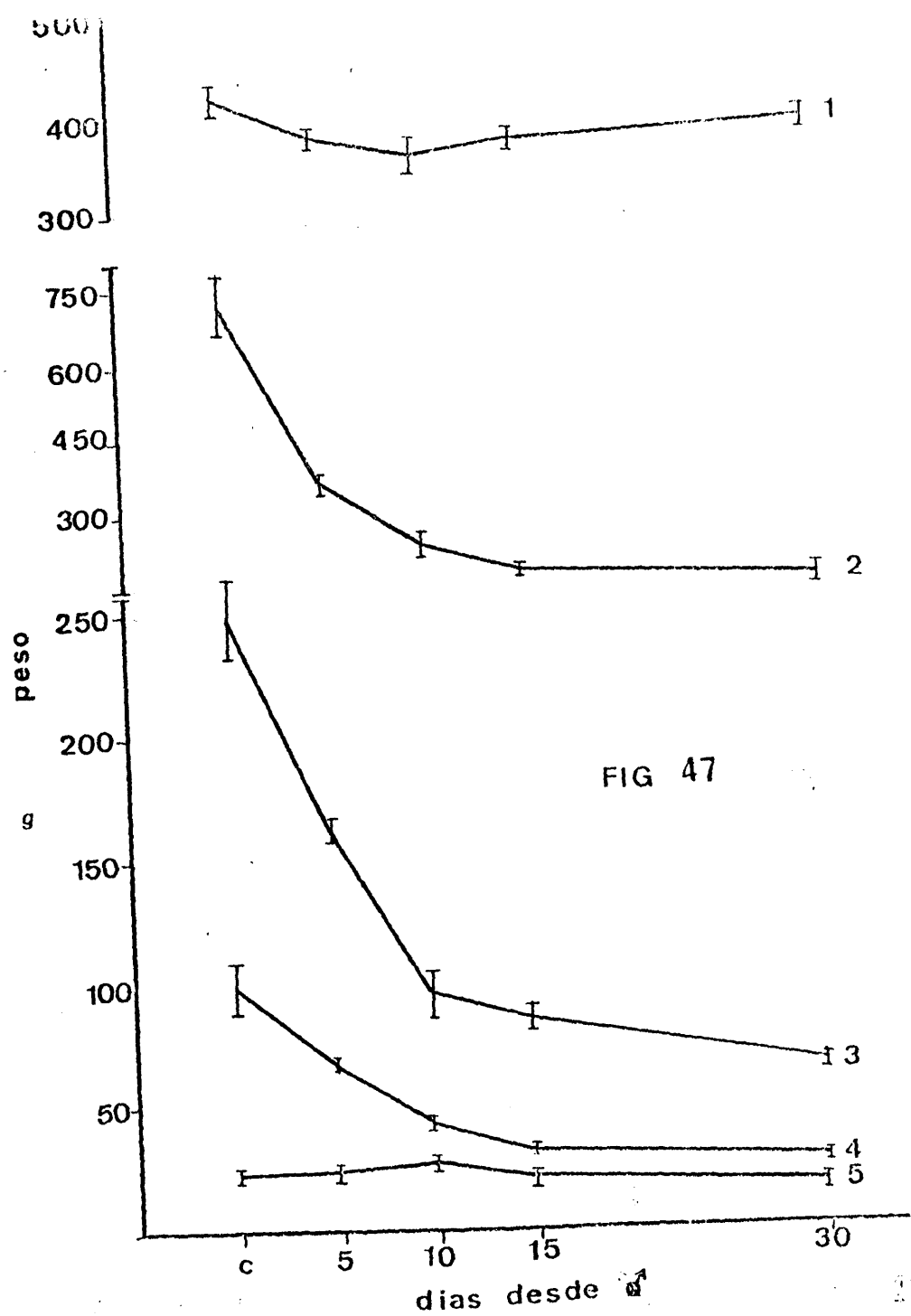


Figura 47.- Representación gráfica de las variaciones de peso a los distintos tiempos después de haber realizado la castración. En ordenadas peso. En abscisas tiempos desde la castración hasta la muerte del animal. (n) número de experimentos. Las barras verticales representan el E.S.M. de peso (1) los animales. (2) próstata. (3) vesículas seminales. (4) conducto deferente. (5) glándulas adrenales.

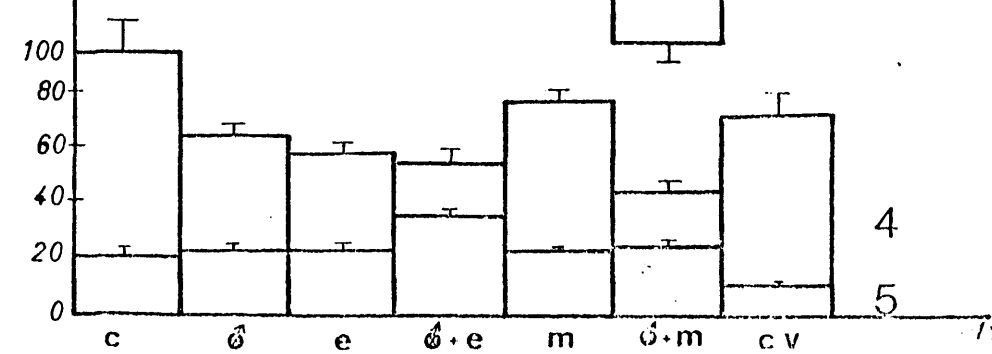
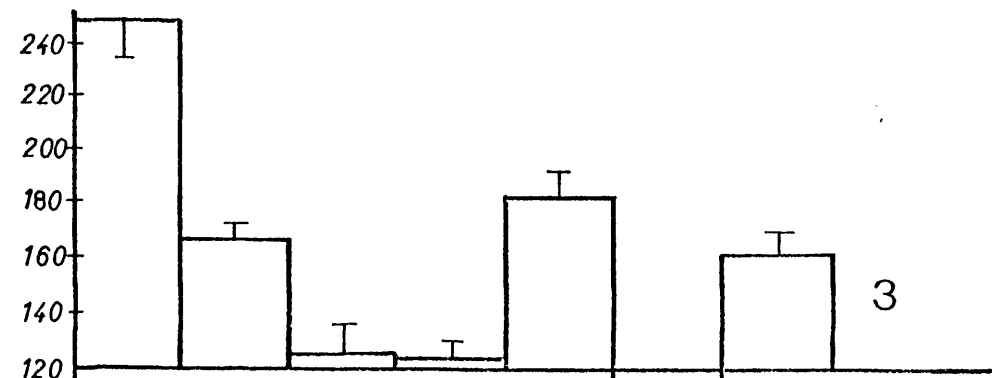
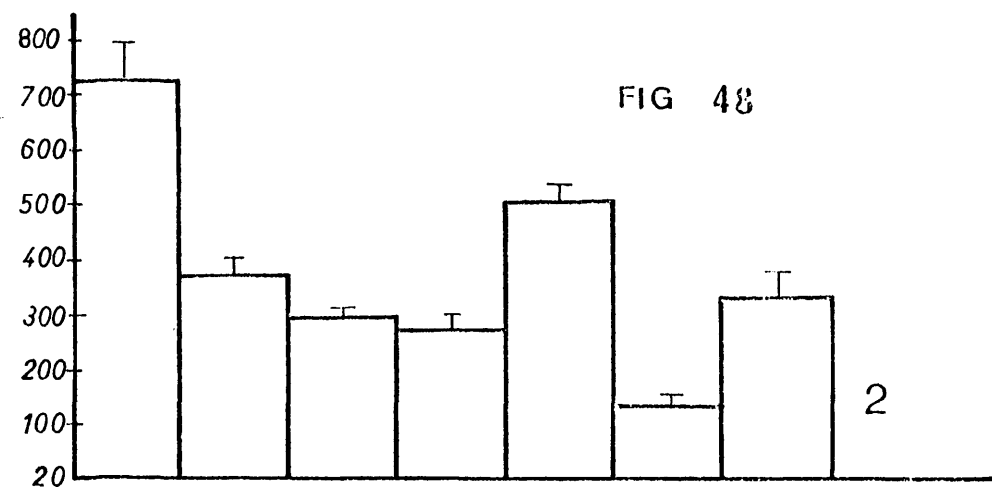
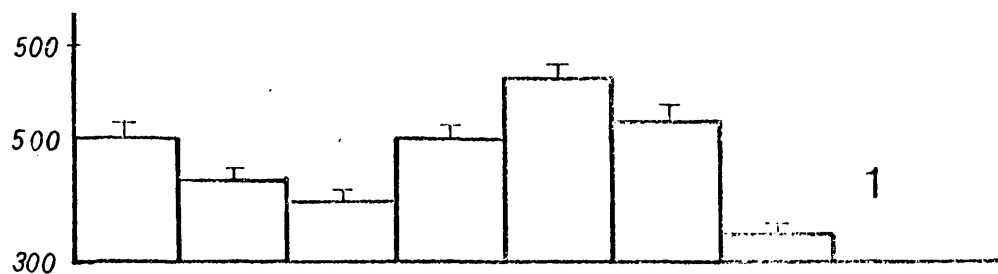


FIG 48

Figura 48.- Histogramas de las variaciones de peso de los distintos animales y por órgano en distintas situaciones experimentales. En ordenadas peso. En abscisas las distintas situaciones experimentales. (n) número de experimentos. Las barras verticales representan el E.S.M. Peso de (1) - los animales. (2) Próstata. (3) Vesículas seminales. (4) Conductos deferentes. (5) Cápsulas adrenales.

1871

DISCUSSION

LA OXITOCINA INHIBE LAS CONTRACCIONES DEL C.D. DE RATA INDUCIDAS POR NA, DA, Ach y ClK.

El hecho de que la Oxitocina inhiba la respuesta contráctil del conducto deferente de rata inducida por agonistas con afinidad por receptores específicos distintos: la NA sobre receptores adrenérgicos, la Dopamina sobre receptores dopaminérgicos. (SIMON y VAN MAANEN, 1976); la Ach. sobre receptores muscarínicos KASUYA y SUZUKI (1979) el ClK facilitando la entrada del calcio extracelular, CHANG y col (1971) nos sugiere que este efecto inhibitor no está mediado por bloqueo de receptores específicos, sino más bien por un mecanismo extrareceptorial común al fenómeno de la contracción de las fibras musculares del conducto deferente. En este sentido, podemos señalar el ion Ca^{++} como responsable en el fenómeno de acoplamiento excitación-contracción DE-VINE y col. (1972). SOMLYO y SOMLYO (1968).

FLECKENSTEIN (1977) estudia el papel del ion Ca^{++} en la contracción muscular tanto en músculo estriado como en músculo liso y corazón. El fenómeno de acoplamiento excitación-contracción en el músculo estriado es prácticamente insensible a las variaciones extracelulares del ion Ca^{++} así como a los agentes farmacológicos modificadores de la conductancia de este ión (verapamil, hantano, etc), ya que los depósitos intracelulares del mismo son más que suficientes para mantener el proceso de la contracción muscular; sin embargo, en miocardio y músculo liso, el fenómeno de acoplamiento excitación-contracción es mucho más sensible a las modificaciones del contenido de Ca^{++} extracelular, así como a los agentes capaces de modificar su conductancia

ya que en este caso, los depósitos de Ca^{++} intracelular tienen una capacidad limitada de depósito, siendo necesaria una aportación constante de Ca^{++} extracelular para mantener la capacidad de contracción.

JURKIEWICZ y cols. (1975) postularon dos mecanismos envueltos en la movilización del Ca^{++} en función de los distintos agonistas utilizados para inducir la respuesta contráctil del conducto deferente de rata:

- 1) Un mecanismo, utilizando como agonista el Cl_2Ba , por el que se movilizarían los depósitos de Ca^{++} fuertemente unidos siendo estos depósitos de Ca^{++} de intercambio o movilización lenta.
- 2) Un segundo mecanismo, por el que actuarían Noradrenalina, Dopamina, Serotonina y Ach en una primera fase, movilizando el Ca^{++} extracelular y/o el Ca^{++} debilmente unido a la membrana celular de intercambio rápido; en una segunda fase la entrada de este Ca^{++} extracelular movilizaría los depósitos intracelulares de intercambio lento.

En cuanto a la respuesta contráctil inducida por el CLK, CHANG y col. (1972) sugieren que este efecto es debido a la movilización del Ca^{++} extracelular, de intercambio rápido.

En nuestros resultados el hecho de que la Oxitocina inhiba totalmente las contracciones inducidas por el CLK y que, sin embargo, no se llegue a la abolición total de las mismas, utilizando como agonistas la Noradrenalina, Dopamina y Acetilcolina, sugiere que esta hormona bloquearía la mo-

vilización del Ca^{++} fácilmente intercambiable, cuya movilización es la responsable de las contracciones inducidas por el CLK, y por las demás agonistas en la primera fase; no ejerciendo ninguna modificación sobre los depósitos intracelulares de Ca^{++} , responsables en una segunda fase de las contracciones inducidas por los agonistas: NA, DA y Ach.

Por otra parte SCHULZ y col. (1975) pudieron demostrar que en el conducto deferente de rata, la Noradrenalina incrementa los niveles de GMP cíclico y AMP cíclico en una relación de concentración-dependiente, sugiriendo que los receptores adrenérgicos están envueltos en el efecto de las catecolaminas sobre el GMP cíclico, mientras que los receptores beta son responsables del efecto sobre los niveles de AMP cíclico, demostrando a su vez que la presencia de iones Ca^{++} era necesaria para el efecto de la Noradrenalina sobre los niveles de GMP cíclico, pero no sobre los niveles de AMP cíclico. A la luz de estos resultados podemos sugerir que la inhibición de las contracciones del conducto deferente producidas por la disminución del Ca^{++} extracelular pueda ser debida a una disminución de GMP cíclico, como último mediador; y que la Oxitocina produzca inhibición de la respuesta, por el mismo mecanismo, al bloquear la movilización de Ca^{++} extracelular o de los depósitos del Ca^{++} de la membrana fácilmente intercambiables.

LA OXITOCINA INHIBE LAS CONTRACCIONES DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA INDUCIDAS POR ESTIMULACION ELECTRICA DE -- CAMPO.

Utilizando la estimulación eléctrica de campo en vez de fármacos agonistas, para inducir respuestas contráctiles en el conducto deferente de rata, observamos que la Oxitocina produce una inhibición de las mismas; el primer problema que se plantea, es el de si el neurotransmisor liberado por la estimulación eléctrica, es la Noradrenalina u otro distinto. Existen datos que nos permiten afirmar que la Noradrenalina no es el neurotransmisor responsable de la respuesta contráctil del conducto deferente, cuando éstas se inducen por estimulación eléctrica de campo con estímulos de baja presencia, actuando además la Noradrenalina exógena como inhibidora de esta respuesta AMBACHE y ZAAR (1971) VON EULER y ÅLEVAQUIST (1976); así mismo estos autores descartan la posibilidad de que estas contracciones sean producidas por liberación de los neurotransmisores: Acetilcolina, Serotonina, GABA o ATP; sugiriendo, a su vez, como responsable de la respuesta contráctil, un neurotransmisor no identificado (x), actuando como agonista sobre un determinado receptor específico (rx); la Noradrenalina liberada simultáneamente con el neurotransmisor x excitador, actuaría como inhibidora de la respuesta, por estímulo de receptores adrenérgicos inhibidores, poniéndose este efecto de manifiesto en experimentos realizados utilizando bloqueantes adrenérgicos, en dosis críticas con distinta afinidad por los receptores Alfa pre- y

postsinápticos y preparaciones de animales reserpinizados LORENZO y col. (1978). Esta posible mediación de los receptores presinápticos en la modulación de la respuesta ha podido ser confirmada utilizando un agonista adrenérgico con especial afinidad por los receptores presinápticos, como la Clonidina, LORENZO (1978).

Partiendo del hecho de que la respuesta contráctil - del conducto deferente a la estimulación eléctrica de campo no es mediada por la Noradrenalina como neurotransmisor, sino que ésta actúa como inhibidora de dicha respuesta, - mientras que la Noradrenalina utilizada como agonista en la preparación del conducto deferente aislado es capaz de inducir respuestas contráctiles; y dado que estas respuestas son inhibidas en presencia de Oxitocina, planteamos la posibilidad de un distinto comportamiento de la Oxitocina, sobre las respuestas del conducto deferente de rata, inducidas por estimulación de campo. Sin embargo los resultados obtenidos nos demuestran que en estas condiciones experimentales, la Oxitocina también inhibe la capacidad de respuesta contráctil, fácilmente reversible. Al ponerse de manifiesto esta acción inhibidora, nos planteamos la posibilidad de - que también en esta preparación, la Oxitocina interfiriese con los mecanismos de la movilización de Ca^{++} . En este sentido, y considerando la dificultad de modificar los movimientos de Ca^{++} intracelular (Ca^{++} fuertemente unido), en nuestro modelo experimental, abordamos el problema, modificando el contenido de Ca^{++} extracelular en el medio; para lo cual utilizamos como líquido nutritivo solución de Krebs

con variaciones en su concentración m.M de Ca^{++} de 5 mM. a 0.5 mM. En estas condiciones experimentales se pudo establecer una relación lineal entre la concentración extracelular de Ca^{++} y la acción inhibidora de la Oxitocina sobre la respuesta contráctil, así como entre la concentración de Ca^{++} extracelular y la recuperación de la respuesta a valores control; en este sentido, a menor concentración de Ca^{++} , se produjo una mayor acción inhibidora de la Oxitocina, así como una menor capacidad de recuperación; esta relación lineal entre concentración de Ca^{++} y acción inhibidora de Oxitocina sugiere, un bloqueo de la movilización del Ca^{++} extracelular responsable de la respuesta contráctil.

El hecho de que la recuperación de la respuesta esté también en función de la concentración de Ca^{++} extracelular, apoya la idea de que el componente principal del fenómeno de la contracción muscular es el Ca^{++} fácilmente intercambiable o de movilización rápida, teniendo menor importancia en el proceso contractil el Ca^{++} intracelular de intercambio lenta; refuerza esta hipótesis el hecho de que en presencia de Oxitocina se consiga una abolición total de la respuesta, fenómeno similar al que ocurre cuando se utiliza como agonista ClK^+ , para el que hemos postulado el mismo mecanismo.

VERAPAMIL Y METOXIVERAPAMIL (D_{600}) INHIBEN LAS CONTRACCIONES DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA INDUCIDAS POR NORADRENALINA Y ESTIMULACION ELECTRICA DE CAMPO.

Es conocido que el Verapamil y su derivado metoxilado (D_{600}) interfieren el proceso de acoplamiento excitación-contracción al inhibir la corriente de entrada del Ca^{++} FLEKENSTEIN (1977), este hecho general en todo tipo de fibra muscular lisa ha sido puesto de manifiesto por CARVALHO y MARKUS (1978) en conducto deferente de rata utilizando como agonistas Adrenalina y Cl_2Ba y en nuestros resultados (BENEIT y col, 1979) induciendo la respuesta con Noradrenalina y estimulación eléctrica de campo.

Comparando la acción inhibidora del Verapamil en las contracciones inducidas por Adrenalina CARVALHO y MARKUS y Noradrenalina BENEIT y col. (1979), se puede observar un paralelismo de resultado, utilizando las mismas dosis de Verapamil (1×10^{-6} M y 2×10^{-6} M); sin embargo, cuando se indujeron las contracciones de la preparación utilizando estimulación eléctrica de campo, hemos observado que las dosis necesarias de Verapamil para producir el mismo porcentaje de inhibición sobre la respuesta control fueron de 50 a 100 veces mayores. Esta diferencia podría ser explicada por el hecho de que cuando se inducen contracciones por estimulación eléctrica de campo, se liberaría de la terminal presináptica el ya citado Neurotransmisor excitador x, distinto a la Noradrenalina, y responsable del efecto contráctil, así como "cuanta" de Noradrenalina con función inhibidora de la contracción. Al intervenir el ión Ca^{++} también

la liberación presináptica de los neurotransmisores, produciéndose una disminución de esta liberación paralela a la disminución de Ca^{++} extracelular y al bloqueo por fármacos bloqueantes de la corriente de calcio KERPEKAR y - col. (1972), es posible que el Verapamil inhiba la liberación de los neurotransmisores presinápticamente, tanto la de el de la Noradrenalina como inhibidora; al tener estos dos neurotransmisores una función antagónica y al inhibir el Verapamil neurotransmisor la liberación de un inhibidor, la Noradrenalina, aunque por otra parte esté disminuida también la liberación del neurotransmisor x, excitador, la resultante sería el mantenimiento de la respuesta, con dosis del bloqueante, que en la preparación conducto deferente aislado y Noradrenalina o Adrenalina como agonista, producían una inhibición del 50%, siendo por otra parte necesario para conseguir este porcentaje de inhibición, aumentar la dosis del bloqueante, que inhibiría de manera significativa la liberación del neurotransmisor x excitador, con evidente disminución de la respuesta. Esta respuesta puede ser abolida, cuando se utilizan dosis muy elevadas de Verapamil. La recuperación de la respuesta contráctil, se produce rápidamente al suprimir el Verapamil del medio por lavado, fenómeno que no se produce de manera tan evidente, en los experimentos en los que se modifica la concentración extracelular del Ca^{++} ; por otra parte al suspender el flujo de Verapamil, sin retirarle del medio, se produce una reversión rápida de la respuesta, al acumularse los neurotransmisores liberados desplazando el bloqueante por un posible mecanismo competitivo al aumentar la concen-

tración de agonista. Estos hechos apoyan la hipótesis de que el Verapamil actúa a nivel presináptico inhibiendo la liberación de los neurotransmisores, Ca^{++} dependiente, aunque sin descartar que dosis más elevadas del Verapamil actúan también a nivel postsináptico impidiendo la movilización del Ca^{++} extracelular, produciendo una inhibición de la respuesta contractil.

Los resultados obtenidos con el metoxiverapamil son análogos a los descritos para el Verapamil, si bien este derivado metoxilado posee una mayor potencia farmacológica.

LA ACCION INHIBIDORA DE LA OXITOCINA SOBRE LAS CONTRACCIONES INDUCIDAS POR ESTIMULACION ELECTRICA DE CAMPO EN CONJUNTO DEFERENTE DE RATA, POTENCIADOS POR VERAPAMIL Y D_{600} .

Esta potenciación de la inhibición producida por Oxitocina + Verapamil es similar a la descrita previamente - BENEIT y col. (1979) con Oxitocina + disminución de la concentración extracelular de Ca^{++} , sin embargo la recuperación de la respuesta era total para todas las dosis de los antagonistas del Ca^{++} no consiguiéndose una recuperación total, solo cuando las dosis de estos antagonistas eran superiores a las que potenciaban el efecto inhibidor de la Oxitocina en un 100%; este fenómeno es distinto al producido por modificación del Ca^{++} extracelular, en cuyo caso la recuperación guarda un paralelismo con la disminución de la respuesta contractil. Esta potenciación de la inhibición no se produce a dosis de Verapamil que actuando a nivel presináptico no eran capaces de modificar significativamente -

la respuesta, apoyando este hecho la teoría de que los - dos fármacos actúan por mecanismos distintos, el Verapamil, a las citadas dosis, actuando a nivel presináptico impidiendo la liberación de los neurotransmisores Ca^{++} de pendiente y la Oxitocina bloqueando a nivel postsináptico la entrada de Ca^{++} extracelular de movilización rápida. - Cuando se utilizan las dosis de Verapamil que actúan a nivel postsináptico, el mecanismo de inhibición parece sinérgico con el de la Oxitocina, es decir bloqueando la entrada de Ca^{++} extracelular.

INTERACCIONES DE LA OXITOCINA SOBRE LA REACTIVIDAD DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA DE ANIMALES CASTRADOS Y/O TRATADOS CON TESTOSTERONA.

El conducto deferente de rata de animales castrados presenta contracciones espontáneas rítmicas. Este fenómeno ya fue descrito por MARTINS y VALLE (1939), demostrando estos autores que después de la castración hay una pérdida - de la contracción tónica, pero una mayor sensibilidad a las contracciones rítmicas, causa de la aparición de las contracciones espontáneas. Asimismo GILMORE y LUC GRATH (1977) demostraron que en los animales castrados, desaparece el - segundo componente de la respuesta o contracción secundaria SWEDIN (1971) a cualquier frecuencia de estimulación y la - respuesta tónica a la Noradrenalina; el primer componente o contracción rápida a bajas frecuencias (2Hz) no se modificó en cuanto a la magnitud de la respuesta y la Noradrenalina produjo contracciones rítmicas; la respuesta a un solo

pulso en estimulación de campo, en los animales castrados, fue de la misma magnitud pero de menor duración que en los animales control; con frecuencia de estimulación de 2Uz, el primer componente de respuesta rápida fue inhibido en relación con la respuesta de animales control. Todos los efectos sobre la respuesta del nervio parecían concordantes con la pérdida del componente adrenérgico convencional, produciéndose una situación análoga a la originada por el bloqueo alfa adrenérgico de receptores postsinápticos SWEDIN (1971). Estos hechos sugerían una interpretación distinta a nivel postsináptico para el componente de respuesta rápida y para la contracción secundaria. Estos efectos en animales castrados fueron revertidos al tratar los animales con testosterona WAKADE y col. (1975) SJOSTRAND y SWEDIN (1976), concluyendo que los efectos adrenérgicos de la estimulación del nervio motor y de la NA sobre el conducto deferente de rata están normalmente controlados por testosterona. Por otra parte GRUN y HIGGINS (1960) y GREENBERG y col. (1970) demostraron que la administración de testosterona en ratas normales disminuía el contenido de catecolaminas y la reactividad del conducto deferente de rata, mientras que la castración aumentaba la capacidad de respuesta a las aminas simpaticomiméticas y colinomiméticas. Asimismo GREENBERG y col. (1973) pudieron demostrar que en el conducto deferente de cobaya de animales sexualmente maduros o tratados con testosterona, se producía una disminución de la respuesta contráctil, a la estimulación por agonistas adrenérgicos, y una disminución del contenido

de Ca^{++} , sugiriendo que la maduración sexual y la administración de testosterona afectarían la contractilidad por:

- A) Alteración de la disponibilidad de los receptores de la membrana del músculo liso.
- B) Por alteraciones en su mecanismo contractil intracelular.

Nuestros resultados están en desacuerdo con los obtenidos por GREENBERG y col. (1973) en animales tratados con testosterona, ya que en nuestros experimentos con estimulación eléctrica de campo hemos observado, en los animales tratados con testosterona, una potenciación significativa de la respuesta contractil en relación a los animales control.

Explicamos este fenómeno en base a que esta potenciación sea debida precisamente a la disminución del contenido de catecolaminas, ya que como hemos sugerido, en este tipo de preparación, la Noradrenalina actuaría como neurotransmisor inhibitorio y al estar disminuida, existiría una potenciación de la respuesta.

Por otra parte, en el conducto deferente de animales castrados, hemos observado una disminución de la respuesta contractil al estímulo eléctrico, directamente proporcional al tiempo transcurrido desde el momento de la castración y que esta inhibición era revertida con la administración de Testosterona; estos resultados apoyan la sugerencia anteriormente descrita, en el sentido de que la testosterona al disminuir el contenido de catecolaminas en el conducto deferente

te, se produce una potenciación de la respuesta, al actuar la Noradrenalina como neurotransmisor inhibidor. La Oxitocina produjo inhibición de las contracciones del conducto deferente en animales castrados y/o tratados con testosterona, que no fue significativa respecto al efecto inhibidor obtenido cuando se utilizaron animales normales. Estos resultados sugieren:

- 1) Que no existe una interacción hormonal entre Testosterona y Oxitocina que modifiquen los efectos conseguidos por ésta en animales no tratados.

- 2) Que no existen influencias del contenido de catecolaminas sobre el mecanismo de acción inhibidor de la Oxitocina.

INTERACCIONES DE LA OXITOCINA SOBRE LA REACTIVIDAD DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA EN ANIMALES NORMALES Y CASTRADOS, TRATADOS CON ESTRADIOL.

Partiendo de la base de que los estrógenos sensibilizan las acciones de la Oxitocina en algunas estructuras como el útero, tratamos de observar si el estradiol modificaba de alguna forma las acciones de la Oxitocina sobre el conducto deferente, tanto en animales normales como castrados.

En animales normales y tratados con estradiol la Oxitocina produce una inhibición de la respuesta contractil inducida por estimulación de campo, no modificada respecto a la conseguida en los animales no tratados, lo que parece

descartar la influencia de los estrógenos sobre las acciones inhibitoras de la Oxitocina en el conducto deferente.

En los animales castrados y tratados con estradiol tampoco la Oxitocina modifica de manera significativa la inhibición que producía en los animales normales y no tratados.

Sin embargo, aunque la Oxitocina no modificó la reactividad de la preparación en las situaciones experimentales antes descritas, sí hubo modificaciones en la capacidad de respuesta del conducto deferente en animales castrados y tratados con estradiol; en los que se observó una inhibición significativa de la respuesta contractil, respecto a los animales normales control y a los normales tratados con estradiol. Podemos explicar estos resultados:

- 1) Por el efecto de la castración, ya discutido previamente.
- 2) Por un posible desequilibrio en los animales tratados con estrógenos, de la relación estrógenos/testosterona, con un efecto resultante de acción antiandrogénica. Como ya hemos señalado que la testosterona, al inhibir el contenido de catecolaminas en el conducto deferente, potenciaba la respuesta contractil, al disminuir la Noradrenalina como neurotransmisor inhibitor, la tasa elevada de estrógenos con neutralización del efecto de la Testosterona, daría lugar a una elevación del contenido de catecolaminas y la consiguiente disminu

ción de la respuesta, al actuar estas como neurotransmisores inhibidores; no se pueden descartar como causa de la disminución de la reactividad del conducto deferente, los efectos hipotróficos que tienen lugar en esta estructura (disminución del peso y de la masa muscular contractil) en los animales castrados.

INTERACCIONES DE LA OXITOCINA SOBRE LA REACTIVIDAD DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA EN ANIMALES NORMALES Y CASTRADOS, TRATADOS CON MELATONINA.

Es conocido que la melatonina inhibe la liberación de gonadotropinas hipofisarias, en especial la LH COHEN y col. (1978). Duda la influencia de la LH en el desarrollo y reactividad de los órganos sexuales secundarios; nos hemos planteado la posibilidad de una posible interacción de la melatonina con los efectos ya descritos de la Oxitocina sobre las respuestas del conducto deferente, tanto en animales normales como castrados.

En conducto deferente de animales normales la melatonina potencia significativamente la respuesta contractil; si admitimos que la melatonina produce, a través de la inhibición de LH, una inhibición consecuente de testosterona, estos resultados no concuerdan con los efectos esperados de esta hormona androgénica, y demostradas anteriormente en otras situaciones experimentales; quizá, una disminución primaria de testosterona, diese lugar a un mecanismo de rebote por un feed back positivo, produciéndose secundaria-

mente un aumento de la misma, que justificaría la potenciación de la respuesta del conducto deferente no se pueden descartar otras posibles acciones mediadas directamente por la melatonina, o por una sensibilización producida por esta, sobre los receptores específicos implicados en la respuesta contractil, o por modificaciones producidas sobre el contenido de catecolaminas en el conducto deferente.

En el conducto deferente los animales castrados, la melatonina produce, por el contrario una inhibición significativa de la respuesta.

En los animales castrados existe un lógico aumento de la síntesis de LH por un mecanismo de feed back positivo, pero en presencia de melatonina queda anulado este efecto al inhibirse la síntesis y liberación de LH, por lo que las alteraciones tróficas del conducto deferente se hacen más manifiestas, disminuyendo su reactividad, al no ser posible un mecanismo compensado por la ausencia de testosterona en los animales castrados. Las acciones inhibitorias de la Oxitocina sobre el conducto deferente no son modificadas significativamente por la administración de melatonina, ni en animales normales ni en los castrados, sugiriendo una vez más este hecho que los efectos inhibidores de la Oxitocina no son mediados por influencias hormonales.

LA CYPROTERONA NO MODIFICA LA ACCION INHIBIDORA DE LA
OXITOCINA EN CONDUCTO DEFERENTE DE RATA.

La cyproterona es un antiandrógeno periférico, que antagoniza a nivel de los receptores específicos los efectos de la testosterona STEIMBECK y NEUMANN (1971). No se observaron modificaciones de la reactividad del conducto deferente, en los animales tratados con este antagonista, ni de los efectos inhibidores de la Oxitocina, al actuar la cyproterona sobre receptores específicos, sin modificar la síntesis y liberación de testosterona, la influencia de esta hormona sobre el contenido de catecolaminas permanece inalterada, no modificándose por tanto la reactividad del conducto deferente por una posible mediación adrenérgica.

EFFECTOS DE LA OXITOCINA EN LAS DISTINTAS SITUACIONES EXPERIMENTALES POR LA MODIFICACION DEL CONTENIDO DE Ca^{++} EXTRA
CELULAR.

Partiendo de la base de que las acciones inhibitoras de la Oxitocina sobre el conducto deferente y la recuperación de la respuestas eran influidas por las variaciones de Ca^{++} extracelular, y descartada la interacción de las acciones de la oxitocina en las distintas situaciones experimentales: castración y/o animales tratados con: testosterona, estradiol, melatonina y cyproterona, tratamos de investigar la posible modificación del bloqueo por la oxitocina de la fase de movilización rápida del Ca^{++} , en las mismas situaciones experimentales, habiéndose observado que en

el conducto deferente de los animales normales tratados con testosterona, estradiol, melatonina y cyproterona, que no existe diferencia respecto al bloqueo de la movilización del Ca^{++} ejercido por la oxitocina en animales normales y no tratados.

Sin embargo, en los animales castrados, y/o tratados con estradiol, melatonina, la respuesta del conducto deferente es mucho más dependiente de las modificaciones del contenido de Ca^{++} extracelular. JURKEVICTZ y col. - (1977) demuestran que en el conducto deferente de ratas castradas, hay disminución del contenido de Ca^{++} intracelular de intercambio lento. En base a estos resultados podemos explicar la mayor inhibición por Oxitocina de la respuesta del conducto deferente de los animales castrados por un doble mecanismo:

- 1) La Oxitocina bloquearía la corriente de Ca^{++} fácilmente intercambiable dependiente del contenido extracelular.
- 2) Este bloqueo se produce en preparaciones con déficit del Ca^{++} , intracelular de movilización lenta y responsable de la segunda fase de la respuesta contractil, al estar los animales castrados, como resultado de la afectación de ambos pools de Ca^{++} , se produce una disminución de la reactividad del conducto deferente, así como una potenciación de las acciones inhibitoras de la Oxitocina.

Por otra parte esta explicación es apoyada por el hecho de que en animales castrados, pero tratados con testos

terona, tanto la reactividad del conducto deferente como la acción inhibidora de la Oxitocina, son análogas a las obtenidas en control.

224 B.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1) La Oxitocina produce una disminución de la contractilidad del conducto deferente de rata, usando distintos agonistas, noradrenalina, dopamina, acetilcolina, y CLK.
- 2) Este efecto inhibidor de la contractilidad del conducto deferente también ocurre cuando las contracciones se inducen con estimulación eléctrica de campo.
- 3) Las acciones inhibitoras de la Oxitocina son dependientes de la fase de movilización rápida de calcio en función del calcio extracelular y/o del calcio débilmente unido a la membrana.
- 4) La recuperación de la respuesta también depende del calcio extracelular y por tanto también es modificado por la oxitocina.
- 5) El Verapamil y su derivado metoxilado D₅₀₀, inhiben las respuestas contráctiles del conducto deferente inducidas por estimulación eléctrica de campo.
- 6) La acción inhibidora de las contracciones también ocurre cuando se usa la noradrenalina como agonista. En este caso la inhibición ocurre con dosis 50-100 veces menores de Verapamil.
- 7) El Verapamil, actuaría pues bloqueando la liberación del neurotransmisor excitador así como también la liberación de la noradrenalina que actúa como neurotransmisor inhibidor.
- 8) Las acciones inhibitoras de la Oxitocina son potenciadas por el Verapamil y el D₆₀₀.

- 9) La castración producía una disminución de la reactividad del conducto deferente a la estimulación eléctrica de campo, siendo este fenómeno revertido cuando se administraba propionato de Testosterona.
- 10) La administración de propionato de testosterona produce un - aumento de las contracciones del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo, debido a una disminución del contenido de catecolaminas y actuar la nora-drenalina en esta preparación como neurotransmisor inhibidor.
- 11) La administración de benzoato de estradiol produce aumento de la respuesta contractil del conducto deferente de rata a la estimulación eléctrica de campo.
- 12) El benzoato de estradiol administrado a ratas castradas produce una disminución de la contractilidad del conducto deferente.
- 13) La Melatonina produce un aumento de la reactividad del conducto deferente de rata en la estimulación eléctrica de campo, fenómeno atribuible a una disminución de la liberación de LH hipofisaria.
- 14) La castración y la administración diaria de Melatonina produce una disminución de la respuesta contractil del conducto de ferente de rata a la estimulación eléctrica de campo.
- 15) El acetato de cyproterona no produce ninguna acción sobre la motilidad del conducto deferente de rata.
- 16) Las acciones inhibitoras de la Oxitocina sobre las contracciones del conducto deferente de rata, no son modificadas en ninguna de las situaciones experimentales antes descritas.

- 17) La variación del calcio extracelular en los experimentos con estimulación eléctrica de campo en los animales castrados y/o tratados con propionato de testosterona, benzoato de estradiol y melatonina, potencia las acciones inhibitoras de la Oxitocina sobre las contracciones del conducto deferente de rata. Como la castración disminuye el calcio intracelular y la Oxitocina la conductancia al calcio extracelular el fenómeno de excitación contracción estaría inhibido y esto explica el potenciamiento de las acciones inhibitoras de la oxitocina antes descrito.
- 18) Las variaciones del calcio extracelular en los experimentos de animales normales y tratados con propionato de testosterona, benzoato de estradiol, melatonina y acetato de cyproterona, no ejercían modificaciones en los efectos inhibitoras de la Oxitocina descritos para ratas normales y no tratadas.

BIBLIOGRAFIA

- ADEBANJO, A.O, and AMBACHE, N.: Species variation in vas deferens motor transmission. *J. Physiol.* 281: 28-29 p. 1978
- ADRIAN, E.D; BRONK, D.W. and PHILLIPS, G.: Discharges in mammalian sympathetic. citado por: SJOSTRAND 1937.
- AHMED, A.J, CLARK, E.H, JACOBSS: Water intoxication associated with oxytocin infusion. *Postgrad . - Med. J.* 51: 249-52, 1975
- AKUTSO, S.: Beiträge zur Kenntnis der Innervation des Samenblase beim Menschen. *Pflügers Arch. - ges Physiol.* 96: 541-553: 1903
- AMBACHE, N. and ZAR, M.A: Evidence against adrenergic motor transmission in the guinea-pig vas deferens *J. Physiol.* 216: 359-389. 1971
- AMBACHE, N, DUNK, L.P and ZAR, M.A: Inhibition of post-ganglionic motor transmission in vas deferens by indirectly acting sympathomimetic drug. *J. Physiol.* 227:433-456. 1973
- ANDERSEN, T.W; DE PADUA, C.B, and STENGER, V.: Cardiovascular effects of rapid intravenous injection of synthetic oxytocin during elective section. *Clin. Pharmacol. Therap.* 6:345. 1965
- ANDERSEN, R.: Oxytocin-induced delay of induction of obstetric anesthesia. *Anesthesiology* 43: 132, 1975

- ANDERSEN, R.: Oxytocin-induced venospasm? *Anesthesiology* 44:87-8. 1976
- ARENDT, J, SYMONS, A.M, WIRZJUSTICE, A, WILKINSON, M: Radioimmunoassayable melatonin in various species *J. Endocrinol* 79: 25. 1978
- AXELROD, J, SNYDER, S.H, MOORE, R.Y: Light induced changes in pineal hydroxyindole -o- methyl-transferase: abolition by lateral hypothalamic lesions *Science*. 154: 398-399. 1966
- AXELROD, J: The pineal gland. *Endeavour* 29: 144-148. 1970
- BACQ, Z.M: Impotence of the male rodent after sympathetic denervation of the genital organs. *Amer. J. Physiol.* 96:321-330. 1931
- BARDASANO, RUBIO, J.L: La glándula pineal. Blume Ediciones. 1979
- BEAZLEY, J.M and GILLESPIE, A: Double-blind trial of prostaglandin E₂ and oxytocin in induction of Labour. *Lancet*, I, 152. 1971
- BENEIT, J.V, HIDALGO, A, MORENO, A y LORENZO, P.: Acción de los bloqueantes del calcio sobre las contracciones del conducto deferente de rata inducidas por estimulación eléctrica de campo IV *Reun. Nac. de la A.E.F. (Santiago)*. A. 23 p. 62. 1979

- BENSON, G.K, and FITZPATRICK, R.J: The neurohypophysis and the mammary gland In: The Pituitary gland ed. by G.W. Harris and B.T. Donovan. London Butterworths. 3:414-452. 1966
- BERDE, B.: Pharmacologic des hormones neurohypophysaires et de leur analogues synthétiques. Masson et Cie Editeurs. Paris 1963
- BIELANSKI, W. and EWI, Z: The role of oxytocin in the migration of spermatozoon in the genital organs of male animals. In: Oxytocin and its Analogues 123: ed. by R. Klumbeck and W. Krol. Polish Endocrinological Society, Gracow Section
- BIRMINGHAM, A.T., WILSON, A.B.: Preganglionic and postganglionic stimulation of the guinea pig isolated vas deferens. Br. J. Pharmac. Chemother 21:569-580. 1963
- BIRMINGHAM.: Sympathetic demonstration of the smooth muscle of vas deferens. J. Physiol. 206:695-761. 1970
- BISSET, G.W.: The assay of oxytocin and vasopressin in blood and the mechanism of inactivation of these hormones by sodium thioglycollate. In: Oxytocin edited by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. London. Pergamon Press. 380-399. 1961
- BLOOM, F.E. OLIVER, A.P. y SALMOIRAGHI, C.C.: The responsiveness of individual hypothalamic neurons to electrophoretically administered endogenous amines. Inter. Neuropharmacol, 2:181. 1963

- BLUMENSTEIN, M. HRUBY, V.J.: Carbon-13, nuclear magnetic resonance studies of the interaction of specifically labeled (90%-¹³C) Oxytocin and arginine vasopressin with neuromun 68: 1052-8 1976.
- BOCKAERT, J. ROY, C. and JARD, S.: Oxytocin-sensitive adenylylate cyclase in prep. Role of calcium, Nucleotides, and other factors in hormonal stimulation J. of. Biological Chemistry. 247:70-73. 1972
- BOISSONNAS, R.A, GUTTMANN, P.A., JAQUENOD, and WALLER, J.P: Synthese d'analogues structuraux de l'oxytocine. Helv. Chim. Acta 39: 1421. 1956
- BOISSONNAS, R.A: The Chemistry of oxytocin and vasopressin. In: Polypeptides Which affect smooth muscle and blood Vessels, edited by M. Schachter. New York: Pergamon press, 7-19. 1960
- BONNED, D. COHEN, P.: Characterization of oxytocin receptors on isolated rat fat cells Eur J. Biochem. 56:295-303. 1975
- BOTELLA LLUSIA, J.: Tratado de Ginecología. Tomo I: Fisiología femenina Ed. Científico-Médica. 83- 98 1966.
- BOTELLA LLUSIA, J.: Endocrinología de la mujer Ed. Científica Médica 5ª edición. Castellano. 147-152 y 417-420. 1976

- BRAZEAU, P. : Oxitocicos en bases farmacológicas terapéuticas de Oodman, L.S. y Gilman, A. 5ª edición en español. Edit. Interamericana. 725-736. 1978
- BRIDGES, T.E. HILLHOUSE, E.W. JONES, M.T.: The effect of dopamine on neurohypophysial hormone release in vivo and in vitro. J. Physiol (Lond) 246: 107-9. 1975
- BRIMBLE, M.J. and DYBALL, R.E.J.: Characterization of the response of oxytocine and vasopressin secreting neurones in the supraoptic nucleus to astomic stimulation. J. Physial, 271: 253-271. 1977
- BRIMBLE, M.J, CYBALL, R.E.J. and FORSLING, M.L: Oxytocin release following asmatic actuation of oxytocin neurons in the paraventricular and supraoptic nuclei. J. Physial. 278: 69-78. 1978
- BRODEUR, J. and BEAULNES, A.: Effects de l'oxtocin sur les arrythmics digitaliques chez le chien. Rev. Can. Biol. 23: 37. 1964
- BROOKS, L, Mcm, INHIKAWA, T, KOIZUMI, K y LU, H.H: Activity of neurons in the paraventricular nucleosis of the hypothalamus and its control. J. Physiol. 182:217. 1966
- BROTANEK, V., and KAZDA, S.: Differences in the vasodepressor reaction to oxytocin in men and hous-pregnant and pregenant Whomen. An. J. Obstet. Gynecol. 93:547. 1965

- BUDGE: Uber das centrum genitospinale des nerv sypathicus.
Virclows Arch. f. path. Anat. and Physiol.
15:115-126. 1858.
- BURNSTOCK, G. and HOLMAN, M.E.: The transmission of excita-
tion from antonomons nerve to smooth muscle
J. Physiol. (lond). 155:115-133. 1961
- CALDEYRO-BARCIA, and POSEIRO, J.J: Oxytocin and the contra-
tility of the Numan uterus. Ann. N.Y. Acad.
Sci. 75:813-830. 1959
- CARVALHO, J.E. MARKUS, R.P: Acao de bloqueadores de calcio
na reatividade de canois deferentes de rato
à adrenalina ecloreto de bário.
VII Congresso latino-americano de Farm. (Sao
Paulo) 197. $\frac{1}{2}$ 978
- CATALA, S. and DEIS, R.P.: Effects of gestrogen upon parteu-
rition maternal behavior and lactation in -
ovariectomized pregnant rats. J. Endocrinol.
56:219 1968.
- CELIS, M.G. HASE, S. and WALTER, R.: Structura activity stu-
dies of MSH release inhibition hormone FEBS
Lett. 27: 326-327. 1972
- CELIS, M.G., NAKAGAWA, S.II, and WALTER, R.: Release of pi-
tuitary melanocyte stimulating hormona by neu-
rohypophysal hormone pragments. In: Peptides
Chemistry, structure, biology, Edited by R.
Walter and J. Meienhofer 771-776. 1975

- CHALMERS, I. CAMPBELL, H. TURNBULL, A.C.: Use of oxytocin and incidence of neonatal Jaundice Br. Med. J. 2:115-8. 1975
- CHIANG, K.J and TRIGGLE, D.J.: Membranal Ca^{++} translocation and cholinergic receptor activation, in: The Tabolic Regulation. Academic. Press, Inc 59. 1972.
- CHARD, T., FORSLING, M.L, JAMES.de A.R. y KITAU, M.S, LONDON, J.: The development of a radioimmunoassay in aqueous berffer solution, specificaty and the dissociation of immunological and biological activity. J. Endocrin. 46:533-542 1970
- CHRISTOPHER, R., SNEL, SMYTH, D.G.: Biologically active macromolecular forms of oxytocin. Biochem. J. 165:43-47. 1977
- CLARKE, G. HERRING, L. P. and LINCOLN, D.W: Two separates cholinergic mechanisms for regulation of - oxytocin release. Preceding of the B.P.S. 123, 1977.
- CLARKE, G. FALL, C.H.D, LINCOLN, D.W. and MERRICK,L.P.: Effects of Cholinoceptor antagonists an the suckling Induced and experimentally evoked release of oixitocin. Br. J.Pharmacol. 63: 519-527. 1978.

- CLEVERLEV, J. D. and FOLLEY, S.J.: The blood levels of oxytocin during machine milking in cons with - some observation an its half life in the cir-
 culation. J. Endocrinol. 46:347. 1970
- COLLIP, J.B: A pressor substance obtained from the prostate of the bull. Transc. Royal Soc. Canada.
 Soct. 5, 3^{er} 23:165-168. 1929
- COHEN, M. ROSELLE, D. CHABNER, B. SCHMIDT, T. LIPPMAN, M:
 Evidence for a cytoplasmic melatonin receptor
 Nature, 274:894-895. 1978
- CORT, J.H. HAMMER, J. ULRYCH, M. PISA, Z, BOUSA, T. and
 RUDINGER, J.: Synthetic extended chaire analogues of vasopressin and oxytocin in the -
 treatment of experimental hemorrhagic shock
 Lancet. 2:840. 1964
- CORT, J.H: Electrolytes, fluid dynamics and the nervans -
 system. Academic. Press, 1966
- COVINO, G.B.: Cardiac effects of synthetic oxytocin (syntocinon). Am. Heart. J. 66:627. 1963
- CRANKSHAW, D.J. BRANDA, L.A. MATLIB, M.A. DANIEL, E.E.:
 Localization of the oxytocin receptor in the
 plasma membrane of rat myometrium. Eur. J.
 Biochem. 86:481. 1978
- CROSS, B.: Neurohormonal mechanisms in emotional inhibitory -
 nal milk ejection. J. Endocrinol. 12:29. 1955

- CROSS, B.A.: Hypothalamic influences of sperm transport in the male and female genital tract In: Endocrinology of Reproduction, 167. Ed. e.w. Lloyd Academic Press. 1959
- CROSS, B.A y DYER, R.G.: Does oxytocin influence the activity of hypothalamic neurones J. Physiol. Londres 203: 70, 1969
- CROSS, B.A., MOSS, R.L, y URBAN, L.: Effects of iontophoretic application of acetylcholine and noradrenaline to antidromically identified paraventricular neurons. J. Physiol. Londres 214:28 1971
- CROSS, B.A.: Functional identification of hypothalamic neurons. pp. 39-49 in Recent studies of Hypothalamic function, Eds. K. Ledesha, Keenleyside, Kasper, Basel. 1974.
- CUTHN, J.H. MCGANGHET, H.S. SCOGGIN, W.A. HARGENT, G.M. and THORNTON, W.N.: Contractility of the isolated human uterine artery. Am. J. Obstet. Gynecol 90:143. 1964
- DEBELJUK, L. FEDER, U.M. y PAULUCCI, O.A.: Effects of treatment with melatonin on the pituitary testicular axis of the male rat. J. Rep. Fertil 21:363. 1970
- DEIS, R.P. : Inhibition of milk ejection by exogenous oxytocin in lactating rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137:1006. 1971

- DEIS, R.P.: Hormonas de la neurohipofisis. En Neuroendocrinología (Schiaffine, Oriol, Martini, Motta, Eds). Ed. Toray. 1975 153-164
- DELLMAN, H.D. y RODRIGUEZ, E.M.: Herning bodies, and electron microscopic study of local degeneration of neurosecretory axon. Zeitschrift für Zellforschung, 11:293. 1970
- Van DENMARG, N.L. and KAYS, R.L: Effects of stimulation of the reproductive organs of the cow on the release of oxytocin like substance. Endocrinology, 52:634. 1953
- DEVINE, C.E. SOMLYO, A.V. and SOMLYO, A.P.: Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscles. J. Cell. Biol 52:690. 1972
- DIERICKX, K, VANDESANDE, F. DE MEY, J.: Identification in the external region of the rat median eminence of separate neurophysic-vasopressin and neurophysin-oxytocin containing nerve fibers. Cell tissue Res. 168:141-51. 1976
- DISSELHORST, R.: Die accessorischen Geschlechts drüsen des Wirbeltiere mit besonderer berücksichtigung des Menschen. J.F. Bergmon. Verlag, Wiesbaden 1897
- DISSELHORST, R.: Anführapparat and Anhangsdrüsen der männlichen Geschlechtsorgane, (viertes teil lehrbuch der vergleichender mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere) Albert Oppel. Gustav Fisher Verlag, Jena 1904

- DOMENICO, A. and NEUMANN, K.: Wirkung von antrandrogen -
wirksamen Steroiden auf die Funktion und
Morphologie der Nebennieren von Ratten In:
12 Symp. Dtsch. Ges. für Endokringologie
p. 312. Wiesbaden. 1967
- DREIFUSS, J.J. FRIBOLLET, E. BAERTSCHI, A.J.: Excitation of
Anprooptic neurons by vaginal distention
in lactating rats: correlation with neurohy-
pophyseal hormone release: Brain Res 113:
600-5. 1976
- DYBALL, R.E.J. y DYER, R.G.: Plasma oxytocin concentrations
and paraventricular neurone activity in rats
with diencephalic islands and intact brains
J. Of. physiol. Londres, 216:227. 1971
- DYBALL, R.: Potentiation by urethane and inhibition by pen-
tobarbitone of oxytocin "in vitro" J. Endo-
crinol. 67:453-8. 1975
- DYBALL, R.E.J. and SHAW, F.D.: Inactivation of oxytocin re-
lease during prolonged electrical stimulation
of the rat neural lobe. J. Physiol. 284:123
1978
- DYER, R.G. DYBALL, R.E.J., RORRIS, J.F: The effect of hypotha-
lamic deafferentation upon the ultrastructure
and hormone content of the paraventricular
nucleus. J. Endocrinol. 57:509-16. 1973
- EAYRS, J.T. and BADDELEYE, R.M.: Neural pathways in lacta-
tion. J. Anat. 90:161. 1956

- ELY, F. and PETERSEN, W.E: Factor involved in the ejection of milk. J. Dairy Science 24:211. 1941
- ERKER, E.F. and CHAN, W.Y.: The rite and the mechanism of Phenoxybenzamine potentiation of the pressor response to oxytocin and vasopressin: In vivo and isolated aortic strips studies. J. of Pharmacol. Exp. Ther. 202:287-293. 1977
- EULER, V.S.: An adrenergic action in extracts from the prostatic and related glands. J. Physiol 81:102-112. 1934
- Von EULER, J.S. and HEDYUIST, I.: Evidence for an L. and B₂ receptor mediated inhibition of the twitch response in the quinea pig vas deferens by noradrenaline. Acta physiol. 93:572-3. 1975
- EULER, V.S. and HELQUIST, P.: Inhibition by α and beta adrenergic receptors of the twitch response to transmural stimulation in the quinea pig. Eur. J. Pharmacol. 40:153-162. 1976
- EWY, R. and BIELANSKI, W.: Influence of oxytocin on spermatozoan transport in the ductus deferens of the rat. Int. Union Physiol. Sci. XXII Interscience Congress Leiden 2:545
- FABBRINI, A.; SANTUCCI, V. BELLOCI, M, FRANCAVILLA, S. - FRANCAVILLA, F; MICALLI, F.: Cyproterone acetate and Histological modification of testis In androgens and antiandrogens, Ed. by L. Martini and M. Motta. Raven Press, N.Y. 1977

- FERRY, C.B.: The innervation of the vas deferens of the guinea pig. *J. Physiol.* 192:463-478
- FLECKENSTEIN, A.: Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiopacemakers, and vascular smooth muscle. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 17:149-166. 1977
- FOLLEY, S.J. and KNAGGS, G.S.: Levels of oxytocin in the yngular vein blood of goats during parturition. *J. Endocrinol.* 33:301. 1965
- FOLLEY, J.S and KNAGGS, G.S.: Milk ejection activity (oxytocin) in the external yngular blood of the cow, goat and sow in relation to the stimulus of milking or suckling. *J. Endocrinol.* 34:197. 1966
- FRASCHINI, F. y MARTINI, L.: Rhythmic phenomena and pineal principles, In the Hypothalamics, editado por L. Martini, M. Motta y F. Fraschini. p. 529 Acc. Press. N. Y. 1970
- FREEMAN, R.K, GOEBELSMAN, N. NOCHIMSON, D. CETRULO, L.: and evaluation of the significance of a positive oxytocin challenge test. *Obstet. Gynecol* 47:8-13. 1976
- FULFERTON, W.J. McDOWELL, G.H.: Artificial induction of lactation in ewes: The relative importance of oxytocin and the milking stimulus. *Anst. J. Biol. Sci.* 28:521-4. 1975
- FUXE, K, and HOKFELT, T.: The influence of central catecholamine neurons on the hormone secretion from the anterior and posterior pituitary. *E. Neu*

- rosecretion. (Stutinsky, F.Ed.). 1967
pg. 165
- GAINES, W.E.: A contribution to the physiology of lactation
Am J. Physiol. 38:285. 1915
- GEORGE, J.M.: Vasopressin and oxytocin ove depleted from -
rat hypothalamic undei oftes oral hypertonic
saline, science 193:146-8. 1976
- GEORGE, J.M, STAPLESS, MARKS, B.M.: Oxytocin content of -
microdissected areas of hypothalamis. Endo-
crinology 98:1430-3, 1976
- GERSCHENFELD, H.M, TRAMEZZANI, J.H. y DE ROBERTIS, E.: UL-
traestructure and function in neurohypophy-
sis of the toad. Endocrinology, 66:141. 1960
- GILMORE, A.P and McGRATHE, J.C.: Effects of castration on
the mechanical response to motor nerve sti-
mulation of the rat vas deferens. J. Physiol
proceedings of the B. P.S. p. 473. September
1977
- GILLESPIE, A. DRUMMER, H.C. and CHARDT, T.: Oxytocin relea-
se by infused prostaglandin. Br. Med. J. 1:
543. 1972
- GIRARD, J. HELGE, II, ZUPPINGER, K, BESSER, G.M. BIDLINGMAIER
F, KNORR, R. RITZEN, M. BIERICH, J.R. HOMOLCI
J, TELLER, ZACHMANN, M. KNORR-MURSET, G.: -
Treatmente of idiopathic precocious Puberty
with cyproterone Acetate. Hormone Res. 9:
301-312. 1978

- GLASEL, J.A. McKEIVY, J.F., HRUBY, UJ, SPATOLA, A.F.: Binding studies of polypeptide hormones to bovine neurophysins. J. Biol. Chem. 251:1929-37. 1976
- GOMEZ, E.T.: The relation of posterior hypophysin in the maintenance of lactation in hypophysectomized rats. J. Dairy Sci 22:488. 1939
- GRACHEN, I. POPOV, S.M. TOLKUNOV, U.A: On the oxytocine effect upon the membrane potential of mammary secretory cells. Fisiol. Zh Sssr. 61:642-7. 1975
- GREENBERG, S. and LONG, J.P.: The effect of cocaine, norepinephrine, and ionic stimulants on the isolated anperfused rat vas deferens: Antagonism by adrenergic neuron blockers and reserpine. J. Pharmac. Exp. ther 177:136-145. 1970
- GREENBERG, S, KADOWITZ, P. SCHEDL, H.P and LONG, J.P: Effect of age and testosterone on calcitonin content and reactivity of guinea-pig vas deferens. Pharmac. and Exper. therapeutics 185:505-13 1973.
- GREENWAY, C.U. and STARK, R.D.: The vascular response of the spleen to intravenous infusions of catecholamines, angiotensin and vasopressin in the anesthetized cat. J. Pharmacol. 38:583-592. 1970

- GRUNT, J.A. and HIGGINS, J. T.: Seminal vesicle response to androgen with adrenoling, noradrenaline and acetylcholine. Amer. J. Physiol. 198:15-20 1960.
- HAMADA, H, NEUMANN, F, and JUNKMANN, K.: Intrauterine anti-maskuline Beinflüssung von rattenfeten durch ein stark gestagen wirksames steroid. Acta Endocr. copenh, 44:388 1963
- HAYDEN, B.L, SIMPSON, J.L, EWING, D. OTTERSON, W.N.: can the oxytocin challenge test serve as the primary method for monogig higt risk pregnancies? Obstet gynccol. 46:251-4. 1975
- HAYS, R.L and VANDENMARK, N.L.: The effects of the hormones an interine motility and sperm transport in the perfused genital tract of the cow. J. Dairy Sc. 35:449. 1952
- HAYWARA, J.N, and SENNING, F.E.: Osmoseunitivity of hypothalamic magnocellular neuroguclocine cells to intracorotid hypertonic D.glucose in the walcin markey. Brain Research, 57:467. 1973
- HOUSSAY, A.B., PAZO, J.H, EPPER, C.E.: Effects of the pineal gland upan the hair cycles in mice. J. inv. Derm. 47:230. 1966
- HIB, J.: The contractility of the canda epididymidis of the moose espontaneous antúnoy in vitro and the efferet of oxytocin. J. Reprod. 36:191-3. 1914.

- HOPE, D.B, EALTI, M, WINZOR, D.J.: Cooperative binding
of oxytocin to bovine neurophysin II. Bio-
chem. 197:377-9. 1975
- HOUSSAY, A.B, PAZO, J.H and EPPER, C.E: Effects of the pi-
neal gland upon the hair cycles in mice. J.
invest. Dermat, 1966. 47:230
- HUBENOV, A.: On the dependence between the state of the -
efficiency of the intravenous induction of
delivery in women with pregnancy. 19:175-81
1975.
- HUKOVIC, S.: Responses of isolated sympathetic nerve-duc-
tus deferens preparation of the guinea pig.
Brit. J. Pharmacol. 16: 188-194. 1961
- ISAAC, W.M. TABORSKY, R.G, and FARRELL, G.: S. methoxytrop-
tophol: effect on estrons and ovarian weight
Science 145:63. 1964
- ISHIKAWA, T, KOIZUMI, K y BROODS, C.M.: Electrical activity
recorded from the pituitary stalk of the -
cat. Amer. J. Physiol. 1966
- ISHIKAWA, T. KOIZUMI, K, and BROOKS, L.M: Activity of su-
praoptic nucleus neurons of the hypothalamus
Neurology, Minneapolis. 16:101, 1966b
- JACKSON, H y and JONES, A.R.: The effect of steroids and -
their antagonists on spermatogenesis. Ad.
Steroid Biochem. Pharmac. 3:167-192. 1972

- JONES, DE KNIFTON, A.: Spontaneous and oxytocin-induced arterine motility during the oestrous cycle in goats. *Res. Vet. Med.* 19:131-4. 1975
- JURKIEWICZ, A. MARKUS, R.P. and PICARELLI, Z.P.: Effect of full agonists following castrum deprivation in rat vas deferens. *European J. Pharmacol.* 31:292. 1975
- JURKIEWICZ, A. LANCELOT, A. and GUEDES, A.D.: Time-response curves for basalm and noradrenaline in vas deferens of castrated rat. *European J. of Pharmac.* 45:145-151. 1977
- KANDEL, E.R.: Electrical properties of hypothalamic neuroendocrine cells *J. Gen. Physiol.* 47:691. 1964
- KAPPERS, J.A.: Melatonin, a pineal compound, preliminary investigation of its function in the rat. *Gen Comp. Endocrinol.* 2:610-611. 1962
- KASUYA, Y, SUZUKI, N.: Regional differences in the distribution of cholinergic receptors in the rat vas deferens
- KATZ, R.L.: Antiarrhythmic action of synthetic oxytocin in anesthetized man. *Experientia.* 19:160. 1963.
- KATZ, R.L.: Antiarrhythmic and cardiovascular effects of synthetic oxytocin. *Anesthesiology* 25:553. 1964
- KAWAKAMI, M y SAITO, H.: Unit activity in the hypothalamus of the cat: effects of genital stimuli luteinizing hormone and oxytocin. *San. S. physiol.* 17:466. 1967.

- KAWAKAMI, M. y SAITO, H.: The analysis of inter-spike interval fluctuation of hypothalamic unit activity in response to luteinizing hormone and oxytocin. *Scand. J. physiol.* 19:243. 1969
- KIHLSROM, S.E. and MELIN, P.: The influence of oxytocin - some seminal characteristics in the rabbit *Acta physiol. scand.* 59:363. 1963
- KIRPEKAR, S.M. PRAT, J.C, PUIG, M, WAKADE, A.R.: Modification of the evoked release of noradrenaline from the perfused cat spleen by vasipus ions and agents. *J. Physiol.* 221:601-15. 1972
- KITCHIN, A.H, ICONZETT, H. and PICICFORD, M.: Composision of effects of valyl³-oxytocin and syntocinon on the cardiovascular system of man. *Brit. J. Pharmacol.* 14:567. 1959
- KLAPHOLZ, H. BURKEL.: Intrauterine fetal demise with a negative oxytocin challenge test. *J. Reprod. Med.* 15:169-170. 1975
- KLEIN, D.C. and WELLER, S.: Indole metabolism in the pineal gland, a circadian rhythm in N-acetyltransferase. *Science*, 169:1093-1095. 1970
- KNIGHT, T.W. and LINASAY, A.R.: Short and long term effects of oxytocin on quality and quantity of semen from rams *J. Reprod. Fert* 21:523-529. 1970
- KNIGHT, T.W.: In vivo effects of oxytocin on the contractile activity of the cannulated epididymis and vas deferens in rams *J. Reprod. Fert* 28:141 1972

- KOIZUMI, K. and YAMASHITA, M.: Studien of antidromically identified neurosecretory cells of the hypothalamus by intracellular and extracellular recordings. S. Physiol, 221:683: 1972
- LANGER, S.L EVERD, A. ADLER-GRASCHINSKY, E. DUBOLOKIECH, M.L and LECUCHI, S.M.: Presynaptic regulatory mechanism for noradrenaline release - by nerve stimulation. In: central action of drugs in blood pressure regulation Ed. by D.S. Davies and J.L. Reid. Pitman medical 1975
- LANGLEY, J.N. and H. KANDERSON: The constituents of the hypogastric nerves. F. Physiol. 17:177-191.1894
- LANGLEY, J.N. and H. ANDERSON, K.: The innervation of the pelvic and adjoining viscera. Part IV: the interval generative organs. Part V: position of the nerve cells on the course of the efferent nerve fibers J. Physiol. 18:122-139.1895
- LANGLEY, J.N. and LANDERSON, H.K.: The innervation of the pelvic and adjoining viscera part V. Anatomical observation. J. Physiol. 20:372-406. 1896
- LANGLEY, E.M.: On the regeneration of preganglionic and postganglionic visceral nerve fibers. J. Physiol. 22:215-230. 1897
- LARGE, B.J.: Sympathetic B. receptors and the quinem-pig vas deferens Brt. V. Pharmacol. 24:134-204. 1965.

LASCHET, U, LASCHET, L. FELZNER, H.R., GLAESEL, N.U, MALL
G, and NAAB, M.: Results in the treatment
of hyper and abnormal sexuality of men with
antiandrogens. Acta Endocri. Dopenh. 56 Suppl
119:54. 1967.

LEARMONTH, J.K.: A contribution to the neurophysiology of the
ninary bladder in man. Brain 59:147-176. 1931

LEDERIS, K, BRIDGES, T.E. RICHARDS, C.R, SANTOLAYA, R. (y
ZELNICK, P.R.: Ultrastructural and subcellu-
lar investigation on exocytosis as o likely
mechanism of hormone secretion from the urophy
sis and the neurohypophysis. En Wolstentholme
E.W. y Birch. J. (ed) Neurohypophysial hormo
nes. Churchil. 1971

LEGROS, J. REMACHE, P. VANCAUWENBERGE, J.R. GASPARD, V. -
FRANCHIMONT, P. LAMBOTTE, R.: Release of neu
rophysins daving suckling in the lactating
woman C.R. 50c Biol 169:1648-50. 1975

LERNER, A.B, CASE, J. A, TAKAHASYI, LEE, T.H and MORI, V:
Isolation of melatonin, the pineal gland fac
tor that lightens melanocyton. J. Amer. Chem
Soc. 80:2587. 1958

LEVIN, K.L.: The influence of oxytocin and proserin on the
mercase of speru production in boars. Veteri
narya, Moscow 43: 96-97. (translated from -
Russian). 1968.

- LEYDIG, F.: Zur anatomic der männlichen geschlechtsun Anal-
drüsen der söngethiese. Zeitschrift f. wei-
ssenschaftliche Zoologie. Bd. II 1850.
- LINCOLN, D.W. WAKERLEY, J.B.: Electrophysiological evidence
for the activation of anprooptic neurones du-
ring release of oxytocin. J. Physiol. 242:
533-54. 1974
- LINDMARK, G. and NILSSON, B.A.: A comparative study of ute-
rine activity in labour induced with prosta-
glandin F₂ alfa oxytocin and. In pantaneaus
labour. Acta obstet. Scand. 55:453-460. 1976
- LINZEII, J.L. PEAKER, M. TAYLOR, J.C.: The effects of pro-
lactind and oxytocin on milk devetion and on
the permeability of the mammary epitheliam
in the rabbit. Physiol. 253:547-63. 1975
- LLOYD, D.P.G.: Transmission of impulses through inferior -
mesenteric ganglia. J. Physiol 91:276-311
1937.
- LLOYD, S. and PICKFORD, M.: The effects of oestrogens and
sympathetic denervation an the response to
oxytocin of the blood vessels in the lund
limb of the dog. J. Physiol, 163:362. 1962
- LOEB, L.: Beitrage zur Benegung der Samerleiter. Disserta-
tion Giessen. 1866.

- LORENZO, P.: Dual action of clonidine on the response of quinea-pig vas deferens to field stimulation VII cong. Inter of Pharma. 1978
- LORENZO, P. HIDALGO, A. BENEIT, J.V.: Estudio farmacológico de las respuestas del conducto deferente de rata y cobayo inducidos por estimulación - eléctrica de campo. VII. Congre. Latino-Americano de Farmacología (Sao-Paulo). 101.1978
- LYKESSFELDT, G.: Inudction of labour by bucal oxytocin and demoxytocin. Ugeskr. Laeger 138:1704-7.1976
- MAINWARING, W.I.P. and MANGAN, F.R.: Study of the androgen receptorin avariety of androgen sensitive ti ssues. J. Endocrinol. 59:121-139. 1973
- MARTIN, P.S. and SCHILD, H.O: Effects of thiols on oxytocin and vasopresin receptors. Nature 196:382-389 1964.
- MARTINS, T. and VALLE J.R.: Endocrine control of the motili ty of the male accesory genital organs. En docrinology 25:80-90. 1939
- MATTHEWS, S.DD, HOSSAIN, H. BHARGAVA, S. A'SOUZA, F.: A ran domised controlled triol of an oral solution of prostaglandin E₂ and oral oxytocin used - immediately oftes low amniotomy for induction of labour in the presence of a favorable cer vix. Curr. Med. Res opin 4:233-40. 1976.

- McGRATH, J.C.: Adrenergic and "non-adrenergic" components in the contractile response of the vas deferens to a single indirect stimulus. J. Physiol. 283:23-39: 1978.
- MELIN, P.: Effects in vivo of neurohypophyseal hormones on the contractile activity of accessory sex organs in male rabbits. J. Reprod. Fert - 22:283-292. 1970.
- MENDEZ-BAVER, C, CABOT, H=M. CALDEYRO-BARCIA, R.: New test for biological assay of oxytocin. Science 132:299-300. 1960
- MERRILEES, N.C.R. BURNSTOCK, and M.E. HOLMAN: Correlation of fine structure and physiology of smooth muscle in the guinea-pig vas deferens. J. Cell Biol. 19:529-550, 1963
- MICHAEL, R.P, PLANT, T.M, and WILSON, M.I.: Preliminary studies on the effects of cyproterone acetate on sexual activity and testicular function in adult male rhesus monkeys (Macaca Mulatta). Advances in the Biosciences, 10:197-208. 1973
- MITCHELL, G.A.G.: Anatomy of the autonomic nervous system Livingstone Edinburgh. 1953
- MILENOV, K. KASAKOV, L.: Effect of synthetic oxytocin on the motor and bioelectrical activity of the stomach and small intestine (in vivo). Acta Physiol Pharmacol. Bulg. 3-4, 31-40. 1975

- MILENOV K.: Effect of estradiol, progesterone and oxytocin on smooth muscle activity pp. 395-402 in Physiology of Smooth muscle, Eds. E. Bulbring M.F. Shuba. Raven Press, New York, 1976
- MILONANDU, V.K, BEREZNEV, A.P. and GORONOV, L.N.: The effect of oxytocin on the reproductive system of male livestock. Amm. Brud. 32:101. 1964
- MIRONNEAN, J.: Effects of oxytocin in ionic currents underlying rhythmic activity and contraction in interine smooth muscle. Phlueger Arch. 363: 113-8. 1976.
- MORRIS, J.F. y CANNATA, M.A.: Ultrastructural preservation of the dense cose of posterior pituitary neurosecretary granular and its implication for hormone release. J. Endocrinal 57:517. 1973
- MOSS, R.L, DYBALL, R.E.J. y CROSS, B.A.: Respons of antidromically identified supraoptic and paraventricular mits to acetylcholine, noradrenaline - and glutamate applied antophoretically. Brain Res. 30:435, 1971
- MOSS, R.L, DYBALL, R.E,J y CROSS, B.A.: Excitation of antidromically identified neurosecretory cells of paraventricular neucleo by oxytocin applied ion tophoretically. Exp. Neurol. 34:95 1972.

- MOSS, R.L, URBAN, I, CROSS, B.A.: Microelectrophoresis of cholinergic and aminergic drugs an paraventricular neurons. Amer. J. Physiol. 223:310 1972 b
- MOSS, F. RICHARD, P.:ADrenergic and cholinergic control of ocytocin release evoked by vaginal vogal and mammary stimulation in lactating rats. Physiol. 70:315-332, 1975a
- MOSKOWSKA, A.: Quelques données novells sur le mecanisme de l'antagonisme epiphyso-hypophysaire. Rôle possible de la serotonine et de la melatonine. Rev. Suisse Zool. 72:145-160. 1965.
- MOTTA, M. GRASCHINI, F. y MARTINI, L.: Endocrine effects of pineal gland and of melatonin Proc. Soc. Exp Biol. Med. 126:431. 1967
- MUILER, J.: Uber die organischen Nerven der crektilen inannlichen geschlechisorgna. Abhandl. d. Kgl. prens. Akad. d. Wissensch. Berlin 1835
- MULLER, G.: Zur vergleichender Anatomie und Histologie der prostata der Hanstiere mit Einschluss der - prostata vom Hirsch. Rehbock und Widchewein Luang-diss. Zurich. 1904.
- MULLER, LR. und W. DAHL: Die innervierung der mönn Lichen Geschlech sorgone. Deutsch. Arch. Klin. Med. 107:113-155. 1912

- NAGLE, CA, CARDINALI, D.P. ROSNER, J.M.: Time dependence of estradiol effects on protein synthesis in the rat neurohypophysis. *Experientia* - 31:994-5. 1975
- NAKANO, J. and FISHER, D.: Studies on the cardiovascular effects of synthetic oxytocin. *J. Pharmacol Exp. Therap.* 142:206. 1963
- NAKANO, J.: Cardiovascular responses to neurohypophysial hormones En: *Handbook of physiology and Endocrinology IV, Part.* 1979.
- NEUMANN, H.: Auftreten von Kastrationszellen in Hypophysenvorderlappen männlicher Ratten nach Behandlung mit einem Antiandrogen. *Acta Endocr. Copenh.* 53:53-60. 1966
- NEWTON, M.: Human lactation. En *Milia: The mammary gland and its secretion* E. Kon, S.K. and Cowie A.T. Vol I, capítulo 7. Academic Press, New York Londres 1961.
- NIBBELINK, D.W.: Paraventricular nuclei, neurophysiology and parturition. *Amer. J. Physiol.* 200:1229. 1961
- NICOLAS, P. LAMIER, M. DESSEN, P. COHEN, P.: Interaction of oxytocin and vasopressin with bovine neurophysins I and II. *J. Biol Chem.* 251:3965-71 1976.
- NORDMANN, J. MORRIS, J.F.: Membrane retrieval at neurosecretory axon endings. *Nature* 261:723-5. 1976.

- NOVY, M.J. THOMAS, C.L. LEES, M.H.: Interine contractility and regional blood flow responses to oxytocin and prostaglandin E₂ in pregnant rhesus monkeys. Trans Pac. Coast. Obstet Gynecol Soc. 42:8-21. 1975
- OBA, T.: OTA, K. y YOKOHAMA, A.: Inhibition of milk ejection reflex in lactating rats by sistcunic administration and intracerebral implantations atropine. Neuroendocrinology, 7:116. 1971 a.
- OBA, T. OTA y YOKOHAMA, A.: Rapid decrease and restoration of acetylcholinsteras activity in the hypotalamic of the rat in response to suckling Stimulus. Endocr. Jap. 18:23. 1971b
- OSKI, F.A.: Oxytocin and neonatal hyperbilirubineamia. Am J. Dis. Child. 129:1139-40. 1975
- PAWLIKOWSKI, M. MATA, J. STEPIEN, H.: Influence of vasopressin and oxytocin upon mitotic activity of adrenohypophyseal cells in rat. Endocrinol. Pol. 26:417-21. 1975
- PEAKER, M. TAYLOR, J.C.: Milk secretion in the rabbit: changes during lactation and the mechanisms of ion transport. J. Physiol. 253:527-45. 1975
- PEDROZA, E. and ROSNER, J.M.: Some characteristics of in vitro ³H estradiol binding by the rat posterior hypophysis. Neuroendocrinology 19:193-200 1975.

- PICARD, D. y STAHL, A.: La cellule neurosécrétoire chez les vertébrés. Bulletin de l'association de Anatomistes, LI Reunión, pg. 1. 1966
- PICKERING, B.T. JONES, C.W. BURFORD, G.D.: Biosynthesis and intraneuronal transport of the neurosecretory products in the hypothalamo neurohypophysis splein. En Wolstenholme E.W. y Birch J. Ed. Chorchill Livingstone Edimburgo y Londres pg. 58. 1971
- PICKFORD, M. and WATT, J.A.: A comparison of the effect of intravenous and intra carotid injection of acetylcholine in the dog. J. Physiol. 114:333 1959
- PRILUSKY, J. DEIS, R.P.: Inhibitory effect of prostaglandin F_{2a} on oxytocin release and on milk ejection in lactating rats. J. Endocrinol. 69:395-9 1976.
- QUDY, W.B.: Circadian and estrous rhythmus in pineal melatonin and 5-Hydroxyndole-3-acetic acid. Proc Soc. Exp. Biol. N.Y. 115:710-713. 1963
- RABADAN, F.P. MORENO GONZALEZ, A. and GARCIA DE JALON, P.D.: Modification of the weight of gonad of rats by melatonine, clomiphe he and the association of both arch. de Farmacol. y Toxicol. III 267. 1977

- REINERT, H.: Liber ganglien der prostata. Zeitschrift für rationelle Medizin 1896. Anated from L.R. Müller and W. Dahl 1869
- REMY, Ch: Nerfs eyaculateurs. Jour de l'anatomic et de la physiologie, 22. 1884
- RIEBO, S., ABRANOWITZ, S. GREEN, H, SMALL, M.J. and SCHWARTZ, I.: Cardiovascular effects of oxytocin and composison with related polypeptides. Am. J. Med. Sc. 248:95. 1964
- RICHARDSON, K.C.: Contractil tissues in the mamary gland with special reference to myoepithelium in the gotet. Proc. Royal. Society, B. 136:30. 1949
- ROBERTS, J.S.: Cyclical fluctuations in reflexive oxytocin release daving the estrons cycle of the goat Biol. Reprod. 13:314. 1975
- ROBERTS, J.S.: Annual Rescarch Reviews In: oxytoch Vol. I 1977 Ed. A.F. Horrobin
- ROBINSON, A.G.: Isolation assay and secretion of inidividual human neurophysins J. Clin. Invest. 55:360 1975.
- ROBINSON, A.G. FERIN, M. ZIMMERMAN, E.A.: Plasma neurophysin levels in monkeys: to estrogen and ovarian - events. Endocrinology 96:468-75. 1976

- ROBINSON, ICAF, RUSSELL, T. THORN, N.A.: Calcium and stimulus secretion coupling in the neurohypophysis V. the effects of the Ca^{2+} ionophores A 2317 and X537A on vasopressin release and $^{45}\text{Ca}^{2+}$ efflux: interactions with sodinmand verapamil analogue D₆₀₀). Acta Endocrinol. (Kbh) - 83:36-49. 1976
- ROMANINI, C.; PAPANATTI, L., MILITELLO, G, VILLANI, L, MONE TA, E., NASO. O, and BOMPIANI, A.: Biophysical evaluation of the fetus. II. Diagnostic Value of fetal oxytocin stimulation test during pregnancy. Acta Med. rom. 12:333-340 1974.
- SACHS, H., FAWLETT, P., TAKABATAKE, y, PORTANOVA, R.: Biosynthesis and release of vasopressin and neurophysin. Recents. Prog. Horm. Res. 25: 447-483, 1959
- SALA, H.L. FISCH, L. and SCHWARZ, R.L: Effect of clinical dilatation upon milk ejection in humans and its relation to oxytocin secretion. Amer.J Obstet. Gynecol. 91:1090. 1965
- SANDER, W.G, and MUNSICK, R.A: Antidiuretic potency of oxytocin in women post partum. Am. J. Obstet. Gynec. 95:5-11. 1966
- SCHALLY, A.V, BOWERS, C.Y, KUROSHIMA, A. ISIDA, V. CARTER, W.H. and REDDING, T.W.: Effects of hysine vasopressin diners an blood pressure and some endocrine functions. Am. J. Physiol. 207:378 1964.

- SCHINDLER, A.E, MANGOLD, K, FRIEDRICH, E. KELLER, E. and
GOSER, R.: Therapy of androgenetic symptomatology with cyproterone Acetate and Ethinyl estradiol. Arch. Gynak. 225:103-107. 1978
- SCHNEIDER, B.: Distribution of the neurosecretion in the neurohypophysis of the cow during and following milking Arch. Exp. Veterinaermed. 29:225-228 1975.
- SCHULZ, G. SCHULTZ, K. and HARDMAN, J.: Effects of norepinephrine on cyclic nucleotide levels in the ductus deferens of the rat. Metabolism, 24,3 429-437. 1975
- SEITCHIK, J. CHATKOFF, M.L.: Intrauterine pressure wave form characteristics in hypocontractile labor before and after oxytocin administration. Am. J. Obstet Gynecol. 123:426-34. 1975
- SENDE, P. PANTELAKIS, N. SUSUKI, K., BASHORE, R.: Plasma oxytocin determinations in pregnancy with diabetes insipidus. Obstet. Gynecol. 48 (suppl) - 38-41. 1976
- SHARMA, O.P. and HAYS, R.L.: A possible role for oxytocin in spermatogenesis in the male rat. J. Endocr. 58:43-47. 1976
- SHEIN, H.M. and WURTMAN, R.J.: Cyclic adenosine monophosphate: stimulation of melatonin and serotonin synthesis in cultured rat pineals. Science 166:519 1969.

- SHERRINGTON, C.S.: J. Physiol, 13, 679. 1892. Anoted from
Langley and Anderson 1895.
- SHUTE, C.C.D, and LEWIS, P.R.: Cleolingergic and monoami-
nergic pathways in the hypothelamus. British
Med. Bull. 22:221. 1966
- SILVERMAN, A.J: The hypothalamic magnocellular neurosecreto-
ry system of the guipig II. Immunohistoche-
mical localization of neurophysin in the -
adult. Am. J. Anat. 144:433-43. 1975
- SIMON, A; VAN MAANEN, E.F.: Dopamine neceptors and dopamines
gic Nervus in the vas deferens of the rat.
Arch. int. Pharmacologi. 222:7-15. 1976
- SINGH, V.; KATZARSKI, M.: Effect of prostaglandin F_{2a} on
the neurohupophysis. A histochemical study
Acta morphol. Acad. sci. Hung. 23:51-7. 1975
- SJOSTRAND, N.O: High noradrenaline content in the vas defe-
rens of the cock on the tortoise experientia
21:96. 1965
- SJOSTRAND, N.O: The adrenergic innervation of the vas defe-
rens and the accesory male genital glands.
Acta physiologic scandinavica Vol. 65. Supple-
mentum 257. 1965.
- SJOSTRAND, N.O and SWEDIN, G.: Influence of age groiwth cas-
tration and testosterone treatmen on the no-
radrenaline levels of the ductus deferens and
the auxiliary male reproductive glands of -
the rat. 1976

- SNYDER, S.H; ZWEIG, M; AXELROD, J, and FISCHER, J.E.: Control of the circadian rhythms in serotonin content of the rat pineal gland. Proc. Nat. Acad. Sci. 53:301. 1965
- SNYDER, S.H; ZWEIG, M; AXELROD, J. and FISCHER, J.E.: Control of the circadian rhythm in serotonin content of the rat pineal gland: regulation factors. J. Phar. Exp. Ther. 158:206-213. 1967
- SOLOFF, M.S.: Oxytocin receptors in rat oviduct. Biochem. Biophys Rescommun. 66:671-7. 1975
- SOLOF, M.; SWARTZ, T.; MORRISON, M. and SAFFAN, M.: Endocrinology 92:104. 1973
- SOMLYO, A.V.; WOOD, C.Y; and SOMLYO, A.P.: Responses of nerve free vessels to vasoactive amines and polypeptides. Am. J. Physiol. 205: 748. 1965
- SOMLYO, A.P. and SOMLYO, A.V: Electromechanical and Pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle, F. Pharmacol. Exptt. Therap. 159:129. 1968a
- SORBE, B.: Active pharmacologic management of the third stage of labor. A comparison of oxytocin and ergometrine. Obstetric and gynecol. 52:694-697. 1978

- STEINBECK, H.; MEHRING, M; NEWMANN, F.: Comparison of the effect of cyproterone, cyproterone acetate and estradiol on testicular function, accessory sexual glands and fertility in a long-term study on rats. J. Preprod. Fert. 26:28. 1971
- STEINBECK, H. and NEUMANN, F.: Effect of cyproterone acetate on puberty in rats. J. Reprod. Fert. 26: 59-63. 1971
- STERIN-BORDA, L.; BORDA, E; GIMENO, M.F; GIMENO, A.I.: Spontaneous and prostaglandine on oxytocin-induced motility of rat ovaries isolated during different stages of the estrous cycle: effects of norepinephrine. Fertil. Steril 27: 319-27. 1976
- SUZUKI, H.; JURIHAMA, H.: Comparison between prostaglandin E_2 and oxytocin actions on pregnant mouse myometrium. J. Physiol. 25:345-56. 1975
- SWAAB, A.F. ; POLL, C.W and NIJUELAT, F.: Immunofluorescence of vasopressin in the rat supraoptic and paraventricular nucleus. J. Endocrinol. 67: 461-2. 1975
- SWANN, R.W; PICKERING, B.T.: Incorporation of radioactive precursors into the membrane and contents of the neurosecretory granules of the rat neurohypophysis as a method of study in their fate. F. Endocrinol. 68:95-108. 1976

- SWEDIN, G.: Studies on neurotransmission mechanisms in the rat and guinea-pig vas efferens. Acta physiol. Scand. supplement. 369. 1971
- TASSO, F; PICARA, A.; DREIFUSS J.J: Ultrastructural identification of granuls containing oxytocin and vasopressin. 1970
- TEPPERMAN, J.: Fisiología metabólica y endocrina. 3ª edición en español. Ed. Interamericana. 37-63. 1975
- THEODOSIS, D.T; DREIFUSS,J.J; HARRIS,M.C; ORCI, L.:Secretion related aptake of horseradish peroxidase in neurohypophysial axons. J. Cell Biol. 70 - (2p.t1): 294-30. 1976
- TIMOFEEV, D.: Zur kenntnis der Nervendignngen in der männlichen geschlechtsorganen der sönger. Anat. Anz. 9:342-348; 1894.
- TINDAL, J.S; KNAGBAS, G.S. and TURVEY, A.: The afferent - path of the milk ejection reflex in the brain of the rabbit. J. Endocrinol. 43:663. 1969
- TRAMEZZANI, S.H y CANNATA, M.D.: Morfología de los sistemas neuroendocrinos. En Neuroendocrinología (Schiaffini, Oriol, Martini, Motta, eds) Ed. Toray p. 1-3. 1975.
- TRUMBLE, H.G: The plan of the visceral nerves in the lumbal and sacrol on tilows of the autonomic nervons system. Brit. J. Surg. 21:664-676. 1934

- UGRYUMOV, M.V; BELENKY, M.A.: Electron microscopic study of the monoaminergic fibers in the posterior pi tuitary of rat. Binll. Eksp. Biol. med. 80: 87-90. 1975
- VANDESANDE, F; DIERICKX, K.; DE NEY, J.: Identification of separate vasopressin neurophysin II and oxytocin-neurophysin I containig nerve fibers in the external region of the bovine median eminence. Cell Tissue Res. 158:509-16.1975b
- VANOV, S. and M. VOGT: Catecholamine containig structures in the hypogastric nerves of the dog. J. - Physiol. 168:939-944. 1963
- VAUGHAN, M.K; LITTLE, J.C; JOHNSON, L.Y; BLASC,D.E; VAUGHAN G.M. & REITER, R.J.: Effects of melatonin and natural and synthetic analogues of arginine vasotocin an plasma prolactin levels in adult male rats.-Hormone. Res. 9:236-246. 1978
- VAUGHAN, M.K; BLASK, D.E.; JOHNSON, L.Y.; RUSSEL, J.: The effect of subataneus injections of melatonin, arginine vasotocin, and related peptides an pituitary and plasma levels of lutei nizing hormone, fallicle-stimulating hormone and prolactin in castrated adult Male rats Endocrinology. 104:212-217. 1979
- VOELMFR, J.K.: Out pur of spermatozoa and fluid by de tests of the ram and rats respoons to oxytocin. - Journal of reprodction and Fertility 43:119-122. 1975

- VOIGT, K.H.; FEHM, H.L and LANG, R.E.: The inhibition of ACTH release in isolated pituitary cells by somer tostatin and by MSII inhibition factor (MIF) In: Hypothalamic Homona edited by Voelter, Wand Gupta, D. Weinheim, 1977.
- VOLOSCHIN, L.M. y TRAMEZZANI, J.H.: The neural imput of the milk ejection reflex in the hypothalamus. Endocrinology 92:973. 1973
- WADDELL, S.A: The pharmacology of the vas deferens. J. Pharmacol. Exp. Thes 8:551-559. 1916
- WAKADE, A.R.; GARCIA, A.G. and KIRPEKAR, S.M: Effect of castration on the smooth muscle cells of the internal rex organ of the rat: influence of the smooth muscle on the sympathetic neurons in res valin the vas deferens seminal vesicle and coagulating gland. J. Pharmacol. Exp. Ther. 193:424-434. 1975
- WAKERLEY, J.B and LINCOLN, D.W.: Intermittent release of oxytocin during suckling in the rat. Nature New Biol, 233:180. 1971
- WAKERLEY, J.B; DEVERSON, B.: Stimulation of the supraoptico-hypophysial tract in the rat during suckling Parture to alter the inherent persiadicity of reflex oxytocin rellease. F. Endocrinol. 66:439-40. 1975a

- WAKERLEY, T.B; POULAIN, D.A; DYBALL, RES, CROSS, B.A: Ac-
tivity of phasic neurosecretory cells du-
ring hemorrhage. *Nature*. 258:82-4. 1975b
- WALSH, P.C; SWERDLONFF, R.S; ODELL, W.D.: Cyproterone: Effect
on serum gonadotropin in the Male. *Endocri-
nology* 90:1655-59. 1972
- WALTER, R.: Oxytocin and other peptide hormones as prohormones. In: *Psychoneuroendocrinology*, edited
by N. Hatotani, pp. 285-294. Basel. Karger
1974.
- WALTER, R; HOFFMAN, P.L; FLEXNER, J.G; FLEXNER, L.B.: Neurohypophyseal hormones analogs and fragments
have effect on puromycin-induced amnesia. *Proc
Natl. Acad. Scie.* 72: 4180-4. 1975.
- WALTER, R; : Partial purification and characterization of
post-proline cleaving enzyme: enzymatic -
inactivation of neurohypophyseal hormones by
kidney preparations of various species. *Bio-
chem. Biophys. Acta.* 922:138-58. 1976
- WALTER, R; HAVRAN, R.T.; SCHWARTZIL: Synthetic metabolites
of neurohypophyseal hormones (des-9-glycinamide)
oxytocin and (des-9-glycinamide, des-8-
leucine). oxytocin, *T. uned. Chem.* 19:328-30
1976.
- VARENYCIA, M.W, BAR, H.P.: Modification of the contractile
response of rabbit mammary strips to oxytocin
by prostaglandin. *E₁. Experientia* 31:
1199-2000. 1975

- WATKINS, W.B.: Isolation and some observations of the properties of a bovine neurohypophysial milk effecting factor. Horm. Res 6, 22:35. 1975
- WEIN, A.J, and MURPHY, J.J.: Experience in the treatment of prostatic carcinoma with cyproterone acetate J. Urol. 109:68-70. 1973
- WHALLEY, E.T.: The action of bradykin and oxytocin on the isolated whale uterus and myometrium of the rat in oestrus. Br. J. Pharmacol. 64:21-28 1978
- WHITTON, P.D.; HEMS, D.A: Actions of vasopressin related peptides on glycogen metabolism in the perfused rat liver. Biochem. Pharmacol. 25:405-7 1976.
- WOJCIK, K; BRZEZINSKA-SIEBOCZINSKA, E.: The oxytocin-inactivating activity of the rabbit test homogenates. Bull. Acad. Pol Sci. (Biol) 23:577-80 1975.
- WOJCIK, K; PIETRAS, M.: Effect of oxytocin injection on the rabbit testis homogenate oxytocin activity Bull Acad. Pol Sci. (Biol) 23:469-73. 1975
- WOODBURY, R.A. and ABREU, B.E.: Influence of oxytocin (Pitocin) upon the heart and blood pressure of the chicken, rabbit, cat, dog, and turtle. Am. J. Physiol. 142:144. 1944

WURTMAN, R.J; AXELROD, J and PHILLIPS, L.: Melatonin synthesis in the pineal gland: control by light - Science 142:1071-1073. 1963

WUTMAN, R.J; AXELROD, J; CHE, E.W; HELLER, A.; and MOORE, R.Y.: Medial forebrain bundle lesions: blockade of effects of light on rat pineal gland and pineal. Endocrinology. 81:509-14. 1967

ZIMMERMAN, E.S. and ROBINSON, A.G.: Hypothalamic neurons secreting vasopressin and neurophysin. Kidney Int. 10:12-24. 1976

